

ACTA

PHARMACEUTICA HUNGARICA

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata

3.

2012

APHGAO 82, (043) 93–124. (2012)



ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA

A Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság folyóirata

Főszerkesztő:

Noszál Béla, Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet
1092 Budapest, Högyes E. u. 9.
Tel.: 217-0891;
E-mail: nosbel@hogyes.sote.hu

Felelős szerkesztő:

Zelkó Romána, Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár,
Gyógyszerügyi Szervezési Intézet,
1092 Budapest, Högyes E. u. 7–9.
Tel.: 217-0927;
E-mail: zelrom@hogyes.sote.hu

A szerkesztőbizottság tagjai:

Báthori Mária, Erős István, Gunda Tamás, Perjési Pál,
Tóthfalusi László

A szerkesztőség címe – Correspondence:

Acta Pharmaceutica Hungarica
1092 Budapest, Högyes Endre u. 9.

A főszerkesztő munkatársa:

Hankó Zoltán MGYT,
1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16.
Tel.: 235-0999; fax: 235-0998

TARTALOM

<i>Kállai Nikolett, Sebestyén Zita, Szabó Barnabás, Simon Viktória, Antal István, Zelkó Romána:</i> Intraorális gyógyszerformák fejlesztési lehetőségei	95
<i>Völgyi Gergely, Takácsné Novák Krisztina:</i> Az egyensúlyi oldhatóság meghatározásának helyes gyakorlata III. A hatóanyag-kioldódás vizsgálómódszerei	105
<i>Herczeg Mihály:</i> Az antitrombotikus hatású idraparinux pentaszacharid új szintézise és szulfonsav tartalmú analogonjainak előállítása	113
3 rd International Regulatory Workshop on A to Z on Bioequivalence, Bioanalysis, Dissolution and Biosimilarity	121

CONTENTS

<i>Kállai, N., Sebestyén, Z., Szabó, B., Simon, V., Antal, I., Zelkó, R.</i> : Formulation strategies of intraoral dosage forms.	95
<i>Völgyi, G., Takács-Novák K.</i> : Good laboratory practice of equilibrium solubility measurement III. Dissolution measurements.	105
<i>Herczeg, M.</i> : New synthesis of the anticoagulant pentasaccharide idraparinux and preparation of its analogues containing sulfonic acid moieties.	113
3 rd International Regulatory Workshop on A to Z on Bioequivalence, Bioanalysis, Dissolution and Biosimilarity.	121

Acta Pharmaceutica Hungarica: www.mgyt.hu

„Acta Pharmaceutica Hungarica” a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság tudományos folyóirata
Kiadja a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16. Telefon: 235-09-99; E-mail: szerkesztoseg@mgyt.hu

Felelős kiadó: Prof. Dr. Vincze Zoltán

Előfizethető: Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság, 1085 Budapest, Gyulai Pál u. 16., belföldi postautalványon vagy átutalással
az MGYT átutalási számlájára: OTP VIII. kerületi fiók, Budapest, József krt. 33.

MGYT elszámolási számla sz. 11708001–20530530

Adószám: 19000754–2–42

Előfizetési díj egész évre: 5133 Ft + 257 Ft áfa

Megjelenik negyedévenként. Példányszám: 785 db

Tördelőszerkesztő: *Oláh Csaba*

Sokszorosítás: Print Invest Magyarország-H Zrt., 1053 Budapest, Papnövelde út 8. II. em. 26.

Felelős vezető: Ványik László ügyvezető igazgató

Intraorális gyógyszerformák fejlesztési lehetőségei

KÁLLAI NIKOLETT^{1*}, SEBESTYÉN ZITA¹, SZABÓ BARNABÁS², SIMON VIKTÓRIA¹,
ANTAL ISTVÁN¹, ZELKÓ ROMÁNA²

¹Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Intézet, 1092 Budapest, Hőgyes Endre utca 7.

²Semmelweis Egyetem, Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet,
1092 Budapest, Hőgyes Endre utca 7-9.

*Levelezési cím: kallai.nikolett@pharma.semmelweis-univ.hu

Summary

Kállai, N., Sebestyén, Z., Szabó, B., Simon, V., Antal, I., Zelkó, R.: *Formulation strategies of intraoral dosage forms*

The active pharmaceutical ingredient can be administered by several different routes. Although the oral route (*per os*) has been one of the most convenient and widely accepted delivery system for most drugs, it has number of disadvantages like the very low pH of the stomach, the high enzymatic activity, and extensive first-pass metabolism. Difficulty in swallowing (*dysphagia*) is common among all age groups, especially in „problematical” subpopulations like children and the elderly. Several novel intraoral dosage forms (IODs) have recently become available to modulate the physicochemical and pharmacokinetic characteristics of drugs, while improving patient compliance. The present article summarizes and categorizes their formulation possibilities.

Keywords: *intraoral dosage form, oral cavity, medicated lollipop, drug release*

Összefoglaló

A hatóanyag szervezetbe juttatása számos beviteli úttal lehetséges. Jóllehet az orális adagolás (*per os*) az egyik legalkalmasabb, legelfogadottabb hatóanyag-hordozó rendszer a legtöbb farmakon esetében, számos hátránya is van, így a gyomor savas környezete, a magas enzimaktivitás, a máj jelentős elsődleges lebontó hatása. A nyelési nehézség (*diszfágia*) gyakori minden korcsoportban, de különösen a gyerekek és idősek körében. Napjainkban, különböző új intraorális gyógyszerformák állnak rendelkezésre a farmakon fizikokémiai és farmakokinetikai viselkedésének befolyásolására, miközben a beteg együttműködése javulhat. Jelen tanulmány áttekinti, és példákkal mutatja be az intraorális gyógyszerforma megvalósítási lehetőségeit.

Kulcsszavak: *intraorális gyógyszerforma, szájüreg, gyógyszeres nyalóka, hatóanyag-leadás*

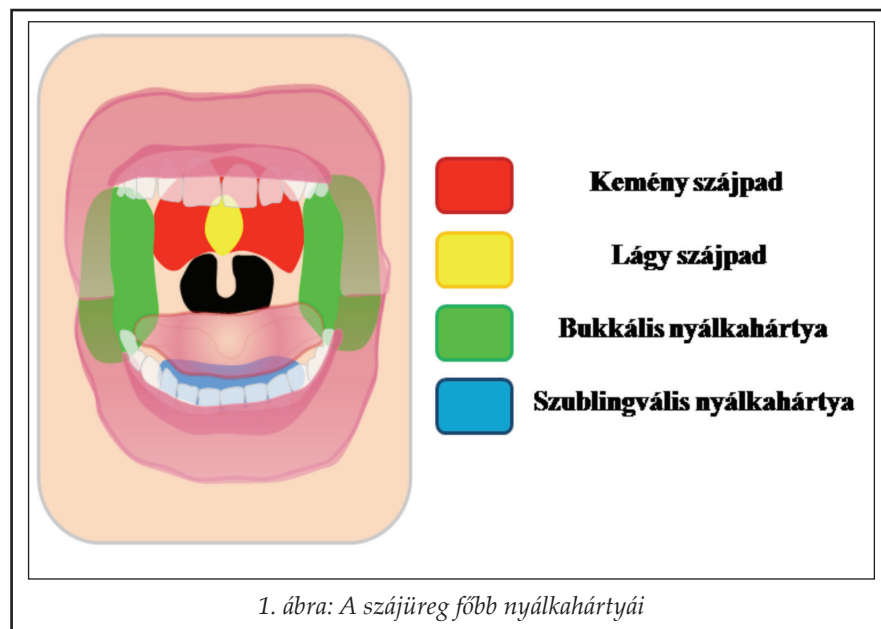
1. A szájüreg felépítése

Az intraorális gyógyszerformákra jellemző, hogy a hatóanyag gyógyszerformából való felszabadulása/kijutása a szájüregben (*cavum oris*, 1. ábra) történik, így a hatóanyag kioldódásának első lépése időben és térben jól definiált.

A szájnyálkahártya teljes felszínének nagysága egyénenként változik, felnőtteknél 100-200 cm² közötti felületnek becsülhető [1, 2], de ez a nyálkahártya a szájüreg különböző régióiban más és más típusú lehet, hogy a legjobban megfeleljen az adott terület funkciójának. A foghús és a kemény szájpad nagyobb mechanikus hatásoknak van kitéve, ezért ellenállóbb, elszarusodó laphám borítja. Ez a teljes szájnyálkahártya mintegy egynegyedét teszi ki. A többi területen (kivéve a nyelv hátát) a rágás és a beszéd miatt egy deformálható, nyújtható felső rétegre van szükség. Ezt többrétegű, el nem szarusodó laphám biztosítja, melynek vastagsága régióként eltérő. A nyelv dorzális oldalán, mely a szájnyálkahártya mintegy 15%-a, az elszarusodó

és el nem szarusodó területek váltják egymást [3]. A valódi szájüreget oldalról a fogak határolják, melyek az aprításban játszanak fontos szerepet. A szájüregben található nyelv biztosítja a keverést és az ízlelést. Ennek következménye, hogy az intraorális készítményekben kiemelt figyelmet kell fordítani a kellemetlen íz elfedésére vagy elnyomására, mert ez nagymértékben csökkentheti a betegek, főként gyermekek terápiás együttműködését (az ún. *compliance-t*). Az egyik lehetőség édes ízű segédanyagok alkalmazása, melyek elnyomják a hatóanyag általában keserű ízét, vagy a hatóanyag maszkírozása, bevonása [4].

A szájüregben termelődő nyál (*saliva*) szintén fontos szerepet játszik az intraorális gyógyszerkészítmények esetében. Egyrészt nedvesíti a gyógyszerformát, illetve biztosítja a hatóanyag-leadáshoz szükséges közeget, ezért a nyál térfogata, pH-ja, pufferkapacitása, enzimátikus összetétele rendkívül fontos. A legjelentősebb szájüregben aktív emésztőenzim a ptialin (α -amiláz), mely a keményítő és a szénhidrátok bontását indítja el, az ebbe



1. ábra: A szájüreg főbb nyálkahártyái

a vegyületcsaládba tartozó gyógyszersegédanyagokat sem kímélve. A saliva karboxiészteráz aktivitással is rendelkezik, így farmakonok és profarmakonok átalakításáért is felelős. Mivel a nyál enzimeit, a növényevő állatokhoz hasonlóan, nem rendelkeznek számottevő peptidáz-aktivitással, az intraorális adagolás ígéretes lehetőség peptid- illetve fehérje-hatóanyagok alkalmazására is [5].

2. Intraorális gyógyszerformák

Az intraorális gyógyszerformák csoportosítása számos szempont szerint lehetséges. Kialakíthatóak:

- *lokális hatású intraorális készítmények*, melyek a szájüreg megadott területén, pl. fogínyen fejtik ki hatásukat;
- *szisztémás hatású intraorális gyógyszerformák*.

A szisztémás hatású készítmények tervezhetőek úgy is, hogy a szájüreg legyen a farmakon felszabadulásának és a hatóanyag jelentős mennyiségének az abszorpció helye is. Ezeknél a készítményeknél a szájüreg egyes területeiről – bukkális szájnyálkahártya, nyelv alatti terület (ún. *szublingvális membrán*) – történik a farmakon felszívódása és optimális esetben a hatóanyag-leadás csak ebbe az egy irányba történik [6, 7].

Számos intraorálisan alkalmazott szisztémás hatású készítmény esetében azonban csak a gyógyszerforma szétesése vagy/és oldódása valósul meg szájüregben. A farmakon kisebb hányada abszorbeálódik ezen a helyen, nagyobb részét a beteg lenyeli és így az a gyomor-bél traktus későbbi

szakaszain keresztül szívódhat fel.

Az intraorális gyógyszerformák csoportosíthatóak a szájüregben való dezintegrációjukhoz vagy/és oldódásukhoz szükséges idő szerint:

- *Gyorsan oldódó hatóanyag-hordozó rendszer* (Quick dissolving delivery system; Fast dissolving delivery system);
- *Lassan oldódó hatóanyag-hordozó rendszer* (Slow dissolving delivery systems)
- *Nem oldódó hatóanyag-hordozó rendszerek* (Non-dissolving systems)

Továbbiakban ezt a csoportosítást alkalmazzuk néhány intraorálisan alkalmazott gyógyszerforma bemutatásával.

2.1. Gyorsan oldódó hatóanyag-hordozó rendszerek

Szájüregbe helyezve néhány másodpercen belül oldódnak/szétesnek a gyorsan oldódó hatóanyag-hordozó rendszerek. A *per os* adagoláshoz hasonlítva a gyorsan oldódó hatóanyag-hordozó rendszerek előnye, hogy könnyen lenyelhető a hatóanyag illetve a farmakon tartalmú részecske, ami nyelési nehézséggel küzdő idős betegek és kisgyermekek számára kedvező. További előnyt jelent, hogy a készítmény széteséséhez/oldódásához a szájüregben levő saliva mennyisége elegendő, így a bevételhez víz nem szükséges.

2.1.1. Szájban diszpergálódó tabletták

A szájban gyorsan diszpergálódó tablettákat a nemzetközi szakirodalom számos néven illeti (ODTs, FDTs, MDTs, Orally Disintegrating Tablets, Orodispersible Tablets, Fast Dissolving Tablets, Mouth Dissolving Tablets). A gyors dezintegráció elérésének érdekében a szájban diszpergálódó tabletták rendkívül porózus szerkezetűek, puhák, nedvességre különösen érzékenyek, ezért csomagolásuk és a bevétel módja is eltér a hagyományos tablettáktól. A szájban diszpergálódó tabletták számos módszerrel előállíthatóak.

A konvencionális tablettákhoz hasonlóan közvetlen préssel is készíthetőek. Az ily módon gyártott tabletták összetételében gyakran szerepel vízben nagyon jól oldódó segédanyag, dezintegráns, szuperdezintegráns és/vagy gázképző

I. táblázat

Gyógyszeres filmek jellemző tulajdonságai

Tulajdonság	Gyorsan feloldódó filmek	Mukoadhezív elolvadó filmek	Mukoadhezív SR filmek
Terület (cm ²)	2-8	2-7	2-4
Vastagság (mm)	20-70	50-500	50-250
Szerkezet	1 rétegű	1 vagy több rétegű	több rétegű
Polimer hordozó víz oldékonysága	nagyon jó	oldódó	nem/kevésé oldódik
Hatóanyag fázis	oldva	oldva/ szuszpendálva	oldva/ szuszpendálva
Alkalmazás	nyelvre	bukkális, gingivális terület	bukkális, gingivális terület
Oldódás	max. 60 másodperc	néhány perc alatt gél képez	8-10 óra
Hatás	szisztémás/lokális	szisztémás/lokális	szisztémás/lokális

komponens. A hagyományos tabletták előállításától eltérően a könnyen diszpergálódó szerkezet megtartásához alacsony préselő alkalmazása szükséges [8]. Közvetlen préssel szájon diszpergálódó minitabletta (ODMTs, *Orally disintegrating mini-tablets*) is készíthető, pl. *Stoltenberg* és munkatársa 1 mg hidroklorotiazid tartalmú ODMT-t állított elő [9].

Koizumi és munkatársai préssel készített szájon gyorsan széteső tablettát azonban a porózus szerkezet kialakításához a szublimáció jelenségét használták fel. Kámfort mannittal tablettázták, majd a préselmenyt 80 °C hőmérsékletű, alacsony nyomású térbe helyezték 30 percre. Ilyen körülmények között az illékony anyag könnyen szublimált a tablettából, hátrahagyva az üreges szerkezetet [10].

Makino és munkatársai orodiszperz tabletták előállításához pórusképzőként vizet alkalmaztak. A hatóanyagot vízzel nedvesített (1-3 m/m%) töltőanyaggal préselték, majd szárították. A víz tablettából történő távozása után szintén porózus szerkezet maradt vissza [11].

Porlasztva szárítással (*spray drying*) nagy fajlagos felülettel rendelkező, gyorsan oldódó szemcséket lehet előállítani. Az így készült porok hatóanyaggal és más segédanyagokkal préselve szintén gyorsan diszpergálódó tablettát eredményeznek. Mannitot (85 m/m%), mikrokristályos cellulózt (MCC) (10 m/m%) és különböző dezintegránsokat (5 m/m%) tartalmazó szuszpenzióból porlasztva szárítással készült szemcsék hatóanyaggal keverve, és tablettázva szintén gyorsan oldódó tablettát eredményezett [12].

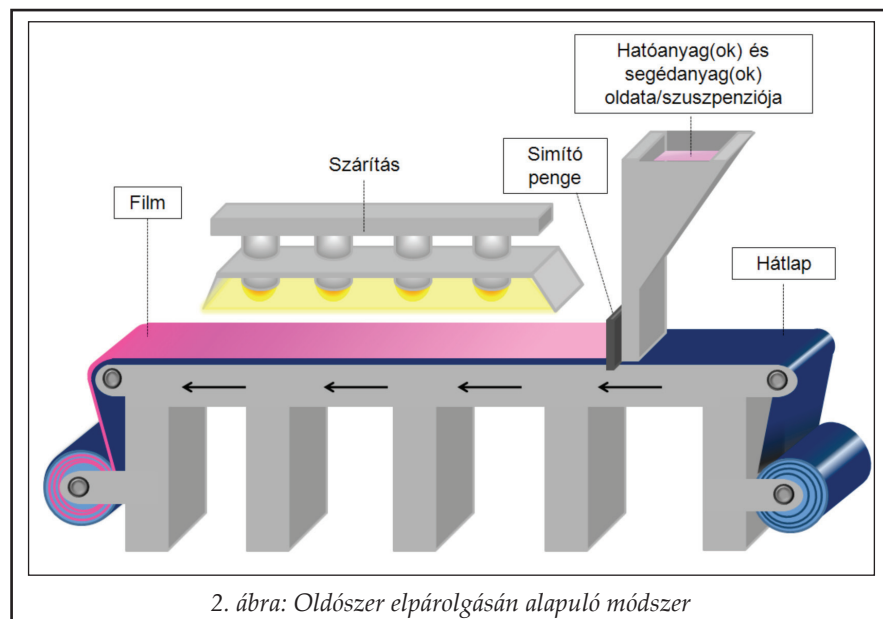
A liofilizálás (*fagyasztva szárítás, freeze drying*) hőérzékeny anyagok kezelése, porampullák gyártása mellett alkalmas szájon gyorsan széteső tabletták előállítására is. A szabadalommal védett

Zydis[®] (R.P. Scherer Corp, Swindon, Anglia), *Lyoc*[®] (Farmalyoc; Laboratoire L. Lefon, Maisons-Alfort, Franciaország) és a *Quicksolv*[®] (Janssen Pharmaceutica, Beerse, Belgium) eljárások alapja is a fagyasztva szárítás [13, 14, 15]. *Zydis*[®] eljárással készült az első kereskedelmi forgalomban kapható szájon diszpergálódó tabletták.

Az ODT esetében a farmakon felszívódásának helye általában nem a szájüregben van. Viszonylag egyszerűen megvalósítható, különböző technológiai módszerek kombinálásával a gasztrointesztinális traktus bizonyos szakaszán történő, helyspecifikus abszorpció is. *Baldi* és munkatársa szájon diszpergálódó tablettát állított elő enterális bevonatú lanzoprazol mikrogramulákból [16]. *Giunchedi* és munkatársai ODT előállításához porlasztva szárítással készített klórhexidin-diacetát tartalmú kitozán mikrogömböket használt [17].

2.1.2. Szájon gyorsan oldódó gyógyszeres lapkák/filmek

Az ODT alternatívájának számítanak a szájon gyorsan oldódó gyógyszeres lapkák/filmek (*fast dissolving film/strip, quick dissolving film/strip, thin film*), melyek főbb tulajdonságait foglalja össze az I. táblázat [18]. A gyorsan oldódó gyógyszeres lapkák tömegének csaknem felét (40-50 m/m%) vízben jól oldódó polimerek (metil-cellulóz, hidroxipropilmetilcellulóz (HPMC), pullulan, poli-vinilpirrolidon (PVP), poli-vinilalkohol (PVA)) alkotják. A megfelelő mechanikai tulajdonság, valamint a szájüregben történő gyors nedvesedés, oldódás és szétesés, kellemes ízérzet következtében a gyógyszeres film két vagy több polimer felhasználásával készül. A PVP például törekeny lapkát képez egymagában, azonban kopovidonnal (keresztkötéseket is tartalmazó



PVP-származék) együtt kellően rugalmas, elastikus gyógyszeres film készíthető [19]. A filmképző polimerek mellett az összetételekben gyakran szerepelnek lágyítószer, nyáleválasztást fokozók, felületaktív anyagok, mesterséges vagy természetes édesítő- és ízesítőszer.

A gyógyszeres lapkák előállítása több módszerrel is lehetséges, azonban a gyógyszeripar leggyakrabban az oldószer elpárolgásán alapuló módszert (*solvent casting method*, 2. ábra) és az olvadék extrúziós eljárást (*hot melt extrusion*, 3. ábra) alkalmazza. Összehasonlítva a két módszert megállapítható, hogy az elsőként említett eljárás előnye, hogy a filmvastagság egyenletesebb, ugyanakkor hátránya, hogy a polimernek oldódnia kell az illékony oldószerben. Az extrúziós eljárás nem igényel ugyan oldószert, de az alkalmazható, hőre lágyuló, megfelelő filmképző polimerek száma limitált [20]. Az ODT-hez hasonlóan számos szabadalmaztatott eljárás létezik gyorsan oldódó gyógyszer-

res filmek előállítására. Jóllehet a szájban gyorsan oldódó gyógyszeres filmek szétesése igen gyors (kevesebb, mint 60 másodperc), hátrányuk, hogy csak viszonylag alacsony hatóanyag dózis (kevesebb, mint 30 mg) esetén használhatóak. A filmvastagság növelésével ugyan növelhető a farmakon mennyisége, de a rétegvastagság növelésével a széteséshez szükséges időtartam is nő.

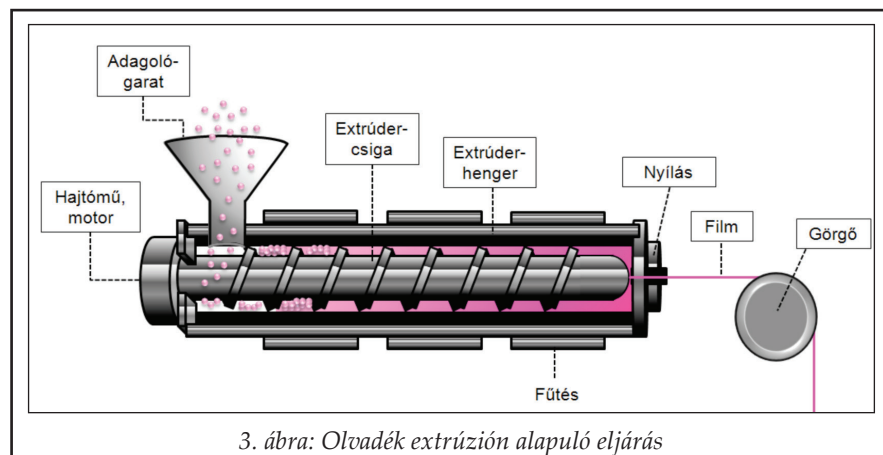
2.2. Lassan oldódó hatóanyag-hordozó rendszer (Slow dissolving delivery systems)

A szájüregben az ilyen készítmények oldódásához/széteséshez 15-20 perc is szükséges, a hatóanyag számottevő mennyisége a szájnálkahártyán keresztül szívódik fel. Ebből következik, hogy a gyógyszerkészítmény szájüregben való tartózkodási idejének, továbbá a hatóanyag és a szájnálkahártya közötti felületének növelése a cél az ebbe a csoportba sorolható hatóanyag-hordozó rendszer formulálásánál, amely a gyógyszerforma lenyelésének akadályozásával, szájüregben való tartásával, vagy/és szájnálkahártyához való tapaszttásával teljesíthető.

2.2.1. Helyspecifikus gyógyszerformák

Idetartoznak többek közt azok a mukoadhezív (nyálkahártyához tapadó) rendszerek, melyek hatóanyag-leadása folyamatos és gyors, a farmakon a szájnálkahártyán keresztül szívódik fel, létrehozva a gyors szisztémás hatást. Az I. táblázatban látható mukoadhezív, lassan oldódó, olvadó filmek néhány jellemző tulaj-

donsága. Az előzőekben bemutatott gyógyszeres lapkákhoz képest ezek a filmek a szájüregbe helyezve a szájnálkahártyához tapadnak, lassan feloldódnak, gél képeznek, és folyamatosan adják le a farmakont. A hatóanyagvesztés minimalizálásának érdekében ezeknél a gyógyszeres filmeknél előnyös egy impermeabilis fedőréteget használni.



Szintén ebbe a csoportba tartoznak a gyors szisztémás hatást létrehozó bukkális és szublingvális tabletták. Hazánkban is forgalomba került, opioid tartalmú, bukkális pezsgőtabletta dagasztó betegek fájdalomkezelésére. A készítményt a pofa (*bucca*) és az íny közé kell tenni, és ott kell körülbelül 14-25 percet tartani, amíg a tablettá pezsgelve fel nem oldódik. *In vivo* vizsgálatok szerint a fentanil 48%-a transzmukozálisan felszívódik a készítményből [21].

Több mint 100 éve köztudott, hogy nitroglicerin 1%-os oldata orálisan alkalmazva megszünteti a mellkasi fájdalmat okozó anginát (*angina pectoris*), illetve megelőzi annak kialakulását [22]. Nitroglicerin tartalmú nyelv alá helyezett tablettá plazmakoncentrációja már néhány percen belül eléri maximumát, további előnyt jelent, hogy a szublingvális alkalmazási móddal elkerülhető a máj, nitrátokkal szembeni intenzív metabolizmusa.

2.2.2. Nem helyspecifikus gyógyszerformák

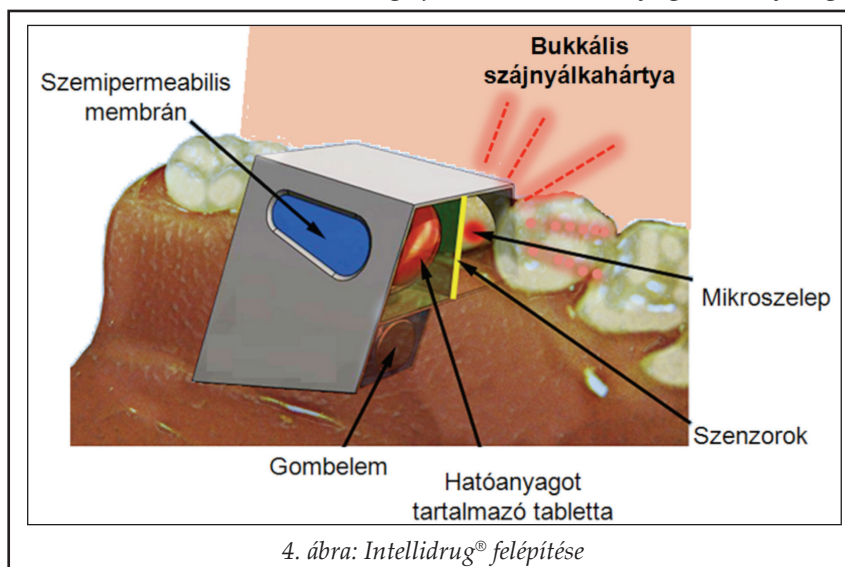
Szopogató tabletták, pasztillák (*lozenge, troche*) és nyalókák a szájüregben tartva (elszopogatva) lassan feloldódnak, szétesnek. A szopogató tabletták leggyakrabban ízesített/édesített alapba ágyazva tartalmazzák a hatóanyagot, előállíthatók préseléssel, és öntéssel is. A pasztillák lágyabb, rugalmasabb struktúrával rendelkeznek. Öntéssel való előállításukhoz természetes és szintetikus polimerek, illetve gumi és édesítőszer keverékei használhatóak. Külföldön több lokális és szisztémás hatású gyógyszeres nyalóka kereskedelmi forgalomban kapható. A hagyományos értelemben vett nyalóka cukorszirup, kukorica szirup, étkezési sav, édesítő és színező anyagok megszilárdult keveréke.

Ayoub és munkatársai lidokain tartalmú spray illetve gyógyszeres nyalóka tolerálhatóságát, biztonságosságát hasonlították össze randomizált kísérletben gyomortükrözés előtt álló 50 beteg bevonásával. Eredményeik alapján a gyógyszeres nyalókát alkalmazó csoportnál kevesebb faringeális (garati-) reflex volt és az endoszkóp levezetése is egyszerűbbnek, tolerálhatóbbnak bizonyult [23]. Az AQTIC® (Cephalon Inc., USA) fentanil-citrát tartalmú fehér színű, erdei gyümölcs ízesítésű, egyik végén lekerekített, henger alakú nyalóka, mely

hat különböző hatáserősségben 1990-es évektől van forgalomban az Amerikai Egyesült Államokban [24, 25].

2.3. Nem oldódó hatóanyag-hordozó rendszerek

A szájüregbe helyezve a hatóanyagot hordozó rendszer nem oldódik fel teljesen, így időben módosított a farmakon leadása. Nem oldódó hatóanyag-hordozó rendszernek számítanak a nyújtott hatóanyag-leadású, szájüregben alkalmazott mukoadhezív filmek (SR filmek), tabletták, tapaszok és egyéb speciális rendszerek (pl. implantátumok). A hatóanyag felszabadulása órákon keresztül, vagy különleges esetben akár napokon át tarthat a gyógyszerformából. A farmakon felszívódásának elsődleges helye a szájnyálkahártya. A 4. ábrán látható *Intellidrug*® nevű implantátum szintén ebbe a csoportba tartozik. A bukkális gyógyszeradagolásra képes számítógép vezérelt fogimplantátum két órlőfog helyére telepíthető. Az elektromediált szabályozott hatóanyag-leadás kezdő jelének az ozmotikus nyomáskülönbség tekinthető. A nyálban levő víz a szemipermeabilis (féláteresztő) membránon keresztül az implantátum hatóanyagot hordozó tartályába jut. A tablettában levő, szilárd halmazállapotú farmakon oldódik és a keletkezett oldat nyomást fejt ki egy levegővel telt ballonra. Ennek következtében kinyílik egy beépített, biztonsági okokból alaphelyzetben zárt, elektromos vezérlésű mikroszelep. A farmakon koncentrációját és áramlásának sebességét mikroszenzorok folyamatosan mérik, mely adatok ismeretében számítható, ellenőrizhető és befolyásolható a bukkális oldalon történő hatóanyag-leadás és az implantátumban még jelenlevő hatóanyag mennyisége.

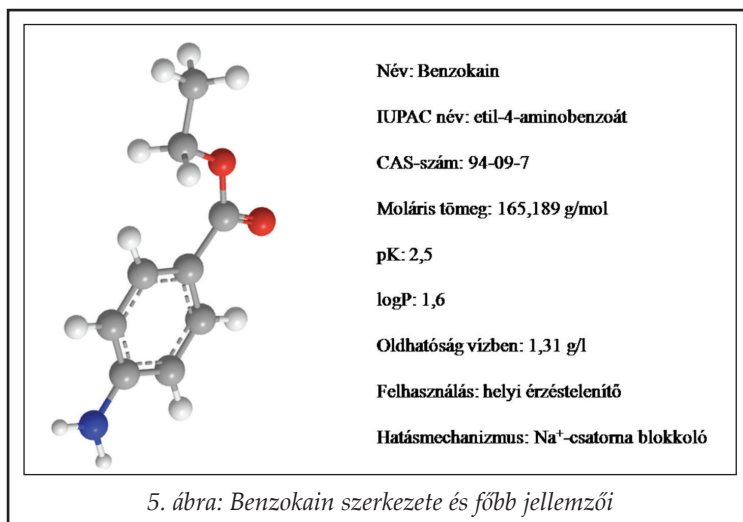


A páciens vagy az orvos szükség esetén növelheti, vagy éppen csökkentheti a felszabaduló hatóanyag mennyiségét egy távirányító segítségével. Az elektromos implantátum megfelelő működéséhez két kisméretű gombem árama elegendő. In vivo tesztek bizonyították, hogy *Intelli-drug*[®] segítségével a beteg terápiás együttműködő készsége javítható, de használata ellenjavallt szájszárazság esetén [26, 27, 28].

3. Intraorális cukormentes hordozó-rendszer formulálása

3.1. Előállítás

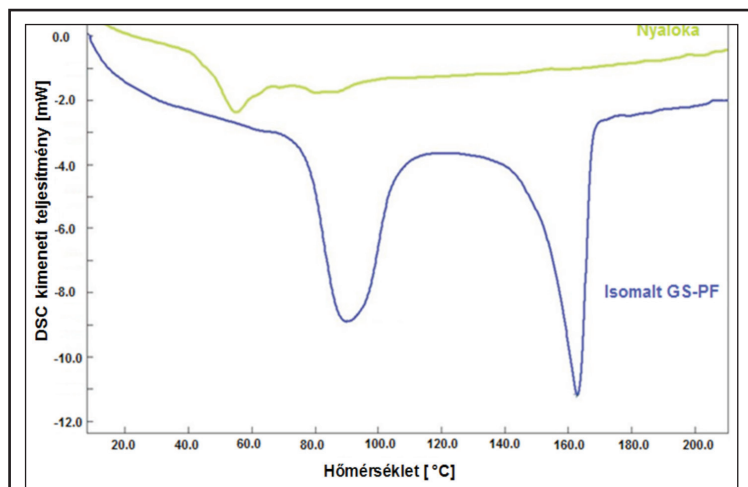
Az alkalmazott hatóanyag kémiai szerkezetét és főbb tulajdonságait az 5. ábra foglalja össze. Segédanyagunk az izomaltot, egy diszacharidot választottunk. Napjainkban, a gyógyszeriparban egyre nagyobb az érdeklődés a felszintetikus izomalt iránt, mivel a hagyományos cukorszarmazékokkal (glükóz, laktóz) ellentétben alacsony a glikémiás indexe, nem növeli meg hirtelen az inzulinszintet, ezért kitűnő alapanyag cukorbeteg vagy szénhidrát lebontási zavarban szenvedő emberek részére. Biztonságosan alkalmazható gyermekeknek is. Fogszuvasodást nem okozó tulajdonsága és kellemes, édes íze miatt vonzó választás lehet szopogató tabletták, rágógumik és nyalókák gyártásakor. A fehér, szagtalan, vízben oldódó izomalt két sztereoizomer – α -D-glükopiranozil-1,1-D-mannitol (GPM) és α -D-glükopiranozil-1,6-D-szorbitol (GPS) – keverékkristálya [29]. A nyalókák előállításához izomalt GS-PF típusát (BENEO-Palatin GmbH, Németország) használtunk, melyet tapadásmentes IntesiumTM felületű, ThermoSpotTM hőindikátorral ellátott edénybe (Tefal, Groupe SEB Deutschland GmbH, Németország) helyeztünk. Folyamatos melegítést (IKA RCT basic fűthető mágneses keverő IKATRON ETS-D5 kontakthőmérővel felszerelve; IKA®-Werke GmbH & Co., Németország) alkalmaztunk, majd a 180 °C-os folyékony halmazállapotú segédanyagot szilikonból készült formába (Easy Choc SCG04, Silikomart[®], Olaszország) öntöttük. A benzokain hatóanyagot (Kern ABT 320-4M, Kern & Sohn GmbH, Németország) csak ezt követően, a körülbelül 80 °C-ra hűlt izomalthoz adtuk folyamatos keverés közben. A nyalókák a dermedést követően a formából könnyen eltávolíthatóak. Hatóanyagot tartalmazó és hatóanyagmentes készítmények



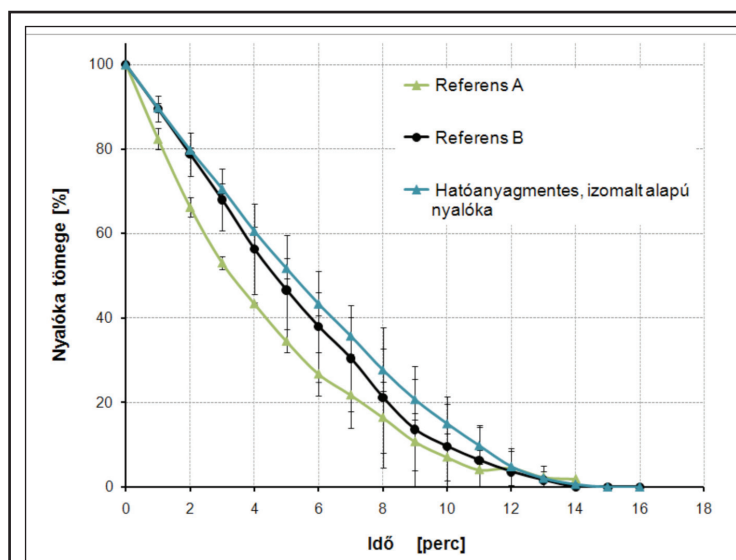
esetében a tömeg $9,5 \pm 0,32$ g illetve $9,5 \pm 0,36$ g volt ($n=10$). Összehasonlító vizsgálatok elvégzéséhez benzokain tartalmú, az Amerikai Egyesült Államokban kapható gyógyszeres nyalókát (Chloraseptic[®], Prestige Brands, USA/Referens A) és kereskedelmi forgalomból hozzáférhető, élelmiszernek minősülő nyalókát (Butlers[®] Lollipops, BUTLERS GmbH & Co.KG., Németország/Referens B) használtunk. A 6 mg benzokain tartalmú gyógyszernek minősülő készítmény összetevői között glükóz szirup, citromsav, íz- és színezőanyagok szerepelnek, szacharóz és propilén-glikol mellett.

3.2. Vizsgáló módszerek

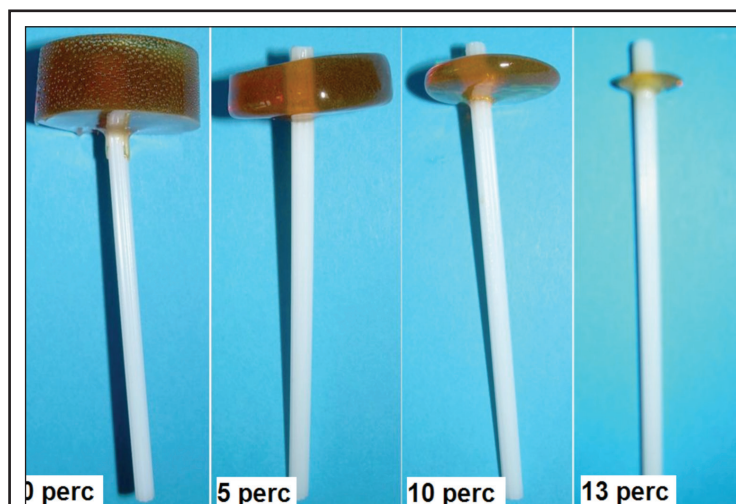
Az izomalt GS-PF és a hatóanyagmentes nyalóka termogramjának elkészítéséhez Seiko Exstar 6000 /6200 típusú (SEIKO Instruments Inc., Japán) készüléket használtunk. Az előállított és a kereskedelmi forgalomban kapható nyalókák in vivo szájból történő tömegváltozásához analitikai mérleget (Kern ABT, Németország) alkalmaztunk. Az in vitro kioldódás vizsgálatot Pharmatest PTW II kioldódás vizsgáló fürdőben (Pharmatest AG, Németország) végeztük, USP-2 módszerrel, 75/perc fordulatszámon. Mind a hatóanyagot tartalmazó, mind a benzokain-mentes, 'placebo' nyalókákat rögzítettük a forgólapáthoz. Kioldóközegként $37 \pm 0,5$ °C temperált, 250 ml térfogatú, irodalomból ismert összetétellel rendelkező salivát (pH=6,8) használtunk [30, 31]. A hatóanyag mennyiségét 285 nm-es hullámhosszon, UV-spektrofotometriás módszerrel, UNICAM UV/VIS UV2 spektrofotométerrel (UNICAM Ltd., Anglia) mértük. Vizsgáltuk a $37 \pm 2,0$ °C-ra temperált, 150 ml térfogatú, 500/perc fordulatszámon kevertetett mesterséges



6. ábra: Kristályos izomalt és izomalt tartamú hatóanyagmentes nyalóka termogramja



7. ábra: Nyalókák tömegváltozásának vizsgálata szájban



8. ábra: Izomalt alapú nyalóka szájban való viselkedése

nyál, különböző nyalókák hatására történő, kémhatás-változását. A nyalókák rendeltetésszerű használatának szimulálására, a minták mozgatásához tabletták szét-esés vizsgálataihoz alkalmazott berendezést (Erweka, model ZT4, Heusenstamm, Németország) alkalmaztunk. A kémhatás változásának nyomon követését Thermo Scientific Orion 3-Star™ pH-mérő készülékkel végeztük, mely számítógéppel volt összekötve és StarPlus Navigator™ 2.0. program 15 másodpercenként rögzítette a kémhatást.

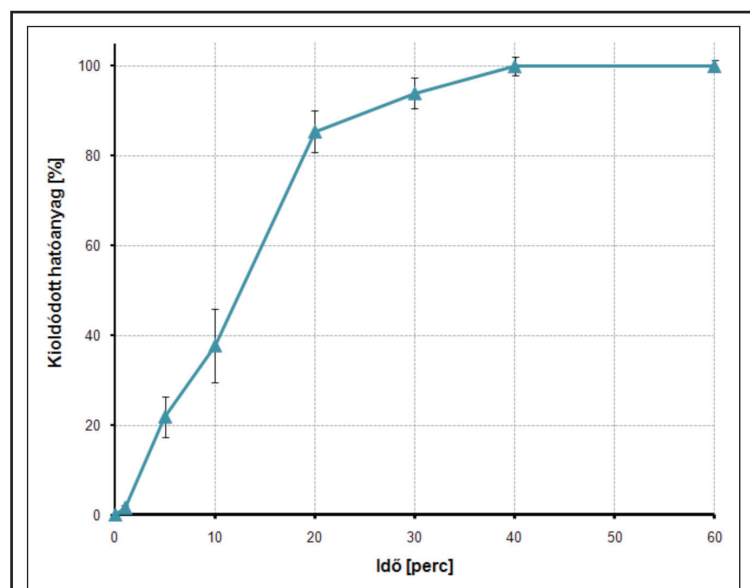
3.3. Eredmények

3.3.1. Differenciál pásztázó kalorimetria (DSC) eredményei

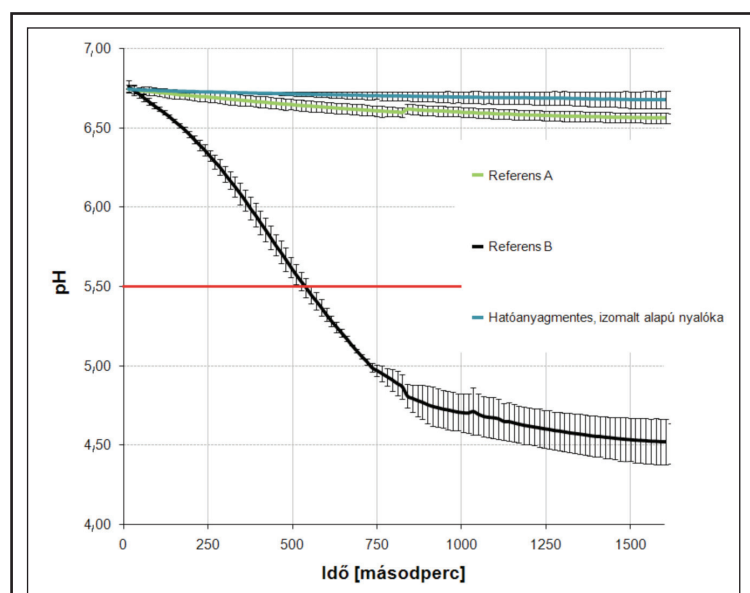
A 6. ábra mutatja a kiindulási anyagként használt kristályos izomalt GS-PF és belőle készült hatóanyagmentes nyalóka termogramját. Látható a kiindulási anyagként használt, kristályrácsos izomalt DSC görbéjén az irodalmi adatokból is ismert két jellemző csúcs [32]. Az első csúcs (kb. 90–95 °C) az izomaltban található glukopiranozil-mannitol dihidrát kristályvízvesztésének jele. Az olvadáspontot a második (kb. 160 °C), élesebb csúcs jelzi. Várakozásainknak megfelelően látható, hogy a nyalóka DSC-görbéje a kristályos izomalttól eltérően nem rendelkezik sem a kristályvízvesztésre, sem az olvadáspontra jellemző éles csúccsal. Ennek oka, hogy a kristályos izomalt a nyalóka előállításakor az olvadáspont feletti hőmérsékleten megolvadt, a kristallitok szétesetek és kialakult az amorf, rendezetlen szerkezet. Az amorf izomalt üvegátalakulási hőmérséklete (T_g) 55–60 °C-nál figyelhető meg. Ez a mért érték megfelel az irodalmi adatoknak [33]. Más cukoralkohollokkal összehasonlítva az izomalt T_g értéke jóval magasabb, ez biztosítja az amorf állapot stabilitását.

3.3.2. Szájban történő tömegváltozás vizsgálatának eredménye

A 7. ábrán látható a közel azonos tömegű nyalókák szájban történő tömegváltozása. A szájban előzetesen mértük a hő-



9. ábra: Benzokain tartalmú nyalóka kioldódási profilja mesterséges salivában



10. ábra: Kémhatás változása mesterséges salivában

mérsékletet, mely a vizsgálatban résztvevő három önkéntes esetében közel hasonló értéknek adódott ($T = 35\text{--}36^\circ\text{C}$). Az ábrán jól látható, hogy a különböző kereskedelmi forgalomban kapható nyalókák, valamint az előállított hatóanyagmentes nyalóka a szájbán hasonlóképpen viselkedik. A készítmények 15 perc alatt teljesen feloldódtak. Mérés közben az előállított izomalt tartalmú nyalókáról készítettünk digitális fényképezőgéppel (Nikon Coolpix L4 fényképezőgép, Nikon Corp., Japán) képeket, melyeket a 8. ábra mutat. Ezeken a felvételeken is jól látható a nyalóka oldódása.

3.3.3. Kioldódás-vizsgálat

Elvégeztük a hatóanyagot tartalmazó nyalóka benzokain leadásának vizsgálatát mesterséges salivában. A 9. ábrán, a kioldódás-vizsgálat eredményéből látható, hogy a benzokain több mint 80 %-a az első 20 percben oldott állapotba került. Ebből, illetve az *in vivo*, szájbán történő tömegváltozás vizsgálatának eredményeiből következtetni lehet arra, hogy a szájüregében hasonló az előállított nyalóka viselkedése.

3.3.4. pH-érték változásának nyomon követése

A vizsgálatot annak bizonyítására végeztük, hogy az előállított benzokain tartalmú nyalóka a szájüreg kémhatását jelentős mértékben nem befolyásolja. A szájbán kialakuló alacsony pH-érték hatására a fogakból ásványi anyagok oldódhatnak ki és a zománc szerkezete meglazulhat, a felszíne károsodhat, ezt a folyamatot, az irodalmi adatok szerint, a $\text{pH}=5,5$ -nél alacsonyabb szájüregi pH idézi elő [34]. Mivel mind az élelmiszernek, mind a gyógyszernek minősülő nyalókák citromsavat tartalmaztak a nyáleválasztás megindításának, fokozásának céljából, szükséges volt a kémhatás változásának nyomon követése esetükben is. A vizsgálat eredményeit a 10. ábrán tüntettük fel. Az eredmények szerint a három vizsgált nyalóka közül egyedül az élelmiszernek minősülő nyalóka esetében csökkent a pH-érték a kritikusnak ítélt 5,5 alá. A kereskedelmi forgalomból hozzáférhető, gyógyszernek minősülő nyalóka igaz citromsavat tartalmazott, de valószínűsíthetően nem olyan mennyiségben, hogy a szájüregben a kémhatást jelentősen befolyásolja. Az előállított izomaltot tartalmazó nyalóka szintén nem okozott jelentős pH-érték csökkenést.

Köszönetnyilvánítás

Ez a munka az Új Széchenyi Terv támogatásával, TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0013 (Simmelweis Egyetem, Magiszter Projekt) valósult meg. A szerzők köszönetüket fejezik ki Dr. Kovács Kristófnak a Chloraseptic® gyógyszeres nyalóka beszerzéséért, illetve Dr. Zsidai Lászlónak az illusztrációk elkészítésében nyújtott segítségéért.

IRODALOM

1. Smart, J.D.: Adv. Drug Deliv. Rev. 11, 253-270 (1993).
2. Chinnna, R.P., Chaitanya K.S.C., Madhusuda, R.Y.: DARU 19, 385-403 (2011).
3. Squier, C.A.: Crit. Rev. Oral Biol. Med. 2, 13-32 (1991).
4. Szakonyi, G., Zelkó, R.: Acta Pharm. Hung. 82, 81-90 (2012).
5. Dévay, A., Antal, I.: A gyógyszeres terápia biofarmáciai alapjai. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 237-246, 2009.
6. Szabó, B., Hetényi, G., Majoros, K., Miszori, V., Kállai, N., Zelkó R.: Acta Pharm. Hung. 81, 1-8 (2011).
7. Szenté, V., Zelkó, R.: Acta Pharm. Hung. 77, 217-222 (2007).
8. Comoglu, T.: Pharm. Ind. 72, 150-158 (2010).
9. Stoltenberg, I., Breikreutz, J.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 78, 462-469 (2011).
10. Koizumi, K., Watanabe, Y., Morita, K., Utoguchi, N., Matsurnoto M.: Int. J. Pharm. 152, 127-131 (1997).
11. Makino, T., Yamado, M., Kikuta, J.I.: US patent 5720974 (1998).
12. Jeong, S.H., Takaishi, Y., Fu, Y., Park, K.: J. Mater. Chem. 18, 3527-3535 (2008).
13. Virely, P., Yarwood, R.: Manuf. Chem. 61, 36-37 (1990).
14. Lafon, L.: EU patent 0159237 (1985).
15. Gole, D., Savall, T., Lyo-fu, G., Dale, W., Paul, K., Davies, J.D.: US patent 20050036977.
16. Baldi, F., Malfertheimer, P.: Digestion 67, 1-5 (2003).
17. Giunchedi, P., Juliano, C., Gavini, E., Cossu, M., Sorrenti, M.: Eur. J. Pharm. Biopharm. 53, 233-239 (2002).
18. Garsuch, V.I.: Preparation and characterization of fast-dissolving oral films for pediatric use. PhD tézis. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (2009).
19. Ali, S., Quadir, A.: Drug. Del. Technol. 7, 36-43 (2007).
20. Siddiqui, N., Garg, G., Sharma, P.K.: Adv. Biol. Res. 5, 291-303 (2011).
21. Zeppetella, G.: Prescriber 20, 28-33 (2009).
22. Murrel, W.: Lancet 151, 225-227 (1897).
23. Ayoub, C., Skoury, A., Abdul-Baki, H., Nasr, V., Soweid, A.: Gastroint. Endoscopy 66, 786-793 (2007).
24. Ault, A.: Lancet 350, 942 (1997).
25. Stanley, H.T.: J. Pain Symp. Man. 29, 67-71 (2005).
26. Scholz, O.A., Wolff, A., Schumacher, A., Giannola, L.I., Campisi, G., Ciach, T., Velten, T.: Drug Disc. Today 13, 247-253 (2008).
27. Moscicka, A.E., Czarnecka, K., Ciach, T.: Macromol. Symp. 253, 134-138 (2007).
28. Herrlich, S., Spieth, S., Messner, S., Zengerle, R.: Adv. Drug Deliv. Rev. doi:10.1016/j.addr.2012.02.003. (2012).
29. Luhn, O., Fritzsche, B.: Innov. Pharm. Tech. 20, 64-68 (2006).
30. Mashru, R.C., Sutariya, V.B., Sankalia, M.G., Parikh, P.P.: Drug. Dev. Ind. Pharm., 31, 25-34 (2005).
31. Gohel, M.C., Parikh, P.P., Aghara, P.P., Nagori, S.A., Delvadia, R.R., Dabhi, M.: Curr. Drug. Deliv. 6, 486-494 (2009).
32. Borde, B., Cesaro, A.: J. Therm. Anal. Cal. 66, 179-195 (2001).
33. Raudonus, J., Bernard, J., Janüen, H., Kowalczyk, J., Carle, R.: Food. Res. Int. 33, 41-51 (2000).
34. Kuribayashi, M., Kitasako, Y., Matin, K., Sadr, A., Shida, K., Tagami J.: J. Dent. 40, 222-228 (2012)

Érkezett: 2012. szeptember 20.

Az egyensúlyi oldhatóság meghatározásának helyes gyakorlata III. A hatóanyag-kioldódás vizsgálómódszerei

VÖLGYI GERGELY, TAKÁCSNÉ NOVÁK KRISZTINA*

Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet, 1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 9.

*Levelezési cím: novak.krisztina@pharma.semmelweis-univ.hu

Summary

Völgyi, G., Takács-Novák K.: **Good laboratory practice of equilibrium solubility measurement III. Dissolution measurements**

In this paper the theoretical background of dissolution determining the oral administration, the physicochemical and physiological factors influencing the rate of dissolution, the relation between solubility and dissolution, the most important pharmacopoeial and miniaturized dissolution measurements and finally the dissolution in biorelevant media are reviewed.

Keywords: dissolution; solubility; intrinsic dissolution rate; oral absorption; biorelevant media

Összefoglalás

Jelen közleményben a szerzők a gyógyszerek orális alkalmazhatóságát meghatározó hatóanyag-kioldódás elméleti hátterét, a kioldódást befolyásoló fizikai-kémiai és fiziológiai tényezőket, az oldhatóság és a kioldódás kapcsolatát, a kioldódás legfontosabb gyógyszerkönyvi és miniaturizált vizsgálómódszereit, valamint a bioreleváns közegben történő kioldódásvizsgálókat tekintik át.

Kulcsszavak: kioldódás; oldhatóság; intrinsic kioldódási sebesség; orális felszívódás; bioreleváns közeg

Bevezetés

Gyógyszermolekulák oldhatóságának pontos és megbízható meghatározása a preklinikai gyógyszerfejlesztés egyik nélkülözhetetlen lépése. A meghatározás helyes gyakorlatáról írt cikksorozatunk első részében [1] az oldhatóság gyógyszerészetben betöltött szerepével, gyakorlatban használt fogalmaival és a telítéssel rázótolcséres meghatározási módszer teljesítőképességével, hibaforrásaival foglalkoztunk. A második részben [2] az ionizálható vegyületek pH-függő oldhatóságának elméleti kérdéseit és a meghatározás gyakorlati szempontjait foglaltuk össze azzal a céllal, hogy a gyári gyakorlat részére hasznos útmutatóval szolgáljunk. Mivel az oldhatósággal szoros kapcsolatban álló, de azzal nem azonos kioldódásvizsgálat is a mindennapi gyári gyakorlat része, a sorozat jelen, harmadik és egyben záró részében az oldhatóság és a kioldódás közötti kapcsolatot, a hatóanyag-kioldódás vizsgálómódszereit, az intrinsic kioldódási sebesség (IDR – *intrinsic dissolution rate*) meghatározásának lehetőségeit tekintjük át.

A gyógyszerek adagolásának leggyakoribb módja az orális úton történő gyógyszerbevitel. Egy gyógyszer orális felszívódásának hatékonyságát, azaz orális alkalmazhatóságát a vegyület számos fizikai-kémiai tulajdonsága befolyásolja, melyek közül kiemelt

jelentőséggel bír az oldhatósága, a kioldódási sebessége és a gasztrointesztinális membránpermeabilitása. Az alacsony oldhatóság, alacsony kioldódási arány, valamint az alacsony permeabilitás nem megfelelő orális felszívódást eredményezhet. Az intesztinális permeabilitást a vegyület kémiai szerkezete nagymértékben befolyásolja. A gyógyszerfejlesztés során a kioldódási profilt megfelelő sóforma kiválasztással, formulálással és a kémiai szerkezet módosításával lehetőség van javítani.

A kioldódás elmélete és jelentősége a gyógyszerészetben

A „jó oldhatóság” fogalomba nagyon gyakran a gyors és teljes kioldódást is beleértjük, holott az oldhatóság, ahogy azt a korábbi közleményekben bemutattuk, egy termodinamikai egyensúlyi állandó, míg a kioldódás egy kinetikai paraméter. Utóbbi nem tévesztendő össze az irodalomban nemrég definiált „kinetikai oldhatóság” fogalmával, melynek definícióját e sorozat első részében adtuk meg [1]. A kioldódási sebesség (angolul: *dissolution rate*) egy sebesség-paraméter, mely megadja az egységnyi idő alatt kioldódott anyagmennyiséget, míg az *intrinsic* kioldódási sebesség (*intrinsic dissolution rate*) egy szilárd gyógyszer egységnyi felületéről történő kioldódását (kioldó-

dott mennyiség/terület/idő) jelenti. Meg kell jegyeznünk, hogy míg az oldhatóság esetén az intrinsic oldhatóság a vegyület nemionizált formájának (pl: HA vagy B) egyensúlyi oldhatóságára vonatkozik [1], addig kioldódás esetén az intrinsic jelző a szilárd gyógyszer egységnyi felületéről történő kioldódását jelöli, tehát nem a nemionizált részecskék kioldódására utal.

A gyógyszerhatóanyagok kioldódása időfüggő differenciálegyenlettel (d/dt) leírható kinetikai folyamat. A kioldódás a szilárd felületről két lépésben történik. Az első lépés a molekula leválása a szilárd felületről, míg a második lépés a molekula diffúziója a szilárd felülettel határos diffúziós rétegen keresztül. A legtöbb esetben nagyon gyors egyensúly alakul ki a szilárd felületnél, így elsősorban a diffúzió határozza meg a kioldódási sebességet. Az első diffúzió-kontrollált modell leírása Noyes és Whitney nevéhez fűződik, melyet később Nernst és Brunner módosítottak [3]. A Nernst-Brunner egyenlet feltételezi a szilárd felülethez illeszkedő diffúziós réteg (nem kevert réteg) fennállását, ami miatt az anyag diffúziós állandója is befolyással van a kioldódásra.

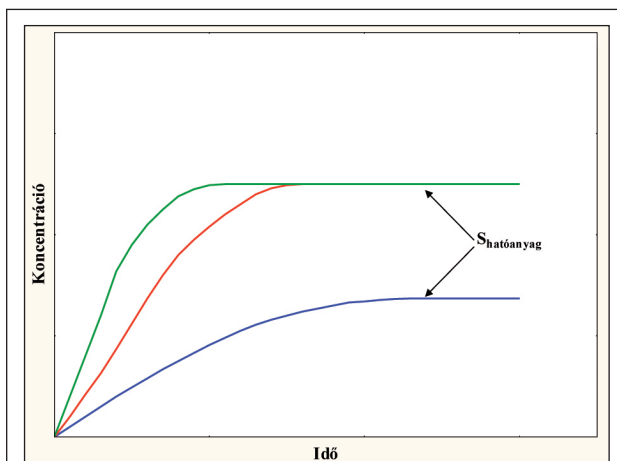
A Nernst-Brunner egyenlet Fick I. törvényéből ered, mely a termodinamika 2. főtételén alapul. Ennek segítségével az egységnyi idő alatt kioldódott anyagmennyiség (DR) meghatározható:

$$DR = \frac{dX_{\text{szilárd}}(t)}{dt} = - \frac{A_{\text{szilárd}}(t) \cdot D_{\text{hatóanyag}}}{h(t)} \cdot (S_{\text{hatóanyag}} - C_{\text{kioldódott}}(t)) = - \frac{A_{\text{szilárd}}(t) \cdot D_{\text{hatóanyag}}}{h(t)} \cdot \left(S_{\text{hatóanyag}} - \frac{X_{\text{kioldódott}}(t)}{V_{\text{kioldó}}} \right) \quad (1)$$

ahol $X_{\text{szilárd}}(t)$ a fel nem oldódott szilárd anyag mennyisége t időpontban, $A_{\text{szilárd}}(t)$ a teljes szilárd hatóanyag effektív felülete t időpontban, $h(t)$ az effektív diffúziós réteg vastagsága t időpontban, $D_{\text{hatóanyag}}$ a hatóanyag diffúziós állandója, $S_{\text{hatóanyag}}$ a vegyület egyensúlyi oldhatósága (telítési koncentráció) a kioldó közegben, $C_{\text{kioldódott}}(t)$ a hatóanyag koncentrációja a kioldó közegben t időpontban, $X_{\text{kioldódott}}(t)$ a kioldódott hatóanyagmennyiség t időpontban, $V_{\text{kioldó}}$ pedig a kioldó közeg térfogata.

Az orális felszívódás szempontjából a Nernst-Brunner egyenletben szereplő $S_{\text{hatóanyag}}$ tag a kioldódási profil (kioldódott anyagmennyiség vs idő görbe) két kritikus fontosságú jellemzőjét határozza meg (1. ábra). Egyrészt az oldhatóságot a szilárd felületnél, mely befolyásolja a görbe kezdeti meredekségét, másrészt az oldhatóságot a kioldó közegben, mely a plató koncentrációt határozza meg.

Fenti egyenletet számos szimulációs program



1. ábra: Ionizálható vegyületek (savak vagy bázisok) tipikus kioldódási görbéi

[A kék vonal azt a hipotetikus kioldódási görbét jelöli egy adott pH értékű kioldó közegben, melynél a vegyület nemionizált (HA vagy B) formában van jelen. A piros vonal mutatja azt a hipotetikus kioldódási görbét egy adott pH értékű kioldó közegben, melynél a vegyület ionizált (A^- vagy BH^+) formában van jelen, és a szilárd felülettel érintkező folyadékréteg pH-ja különbözik a kioldó közeg pH-jától (sav esetén alacsonyabb, bázis esetén magasabb a kioldó közeg pH-jánál). A zöld vonal reprezentálja azt a hipotetikus kioldódási görbét egy adott pH értékű kioldó közegben, melynél a vegyület ionizált (A^- vagy BH^+) formában van jelen, és a szilárd felülettel érintkező folyadékréteg pH-ja megegyezik a kioldó közeg pH-jával.]

használja az orális felszívódás becslésére. Megjegyzendő azonban, hogy ez az egyenlet nem minden esetben alkalmazható, kizárólag akkor előre-mutató, ha a vegyület nem disszociál a kioldó közegben, illetve, ha a kioldó közeg nem tartalmaz felületaktív anyagot.

Savak és bázisok kioldódása

Nemionizált formában lévő savak vagy bázisok kioldódása esetén a szilárd felülettel közvetlenül érintkező folyadékréteg pH-ja különbözik a kioldó közeg (ún. bulk) pH-jától, mivel a szilárd felületről kioldódó molekula reagálhat a kioldó közeg molekuláival [3]. Ionizáció révén a szabad sav kioldódása csökkentheti ($HA + H_2O = A^- + H_3O^+$), míg szabad bázis kioldódása növelheti ($B + H_2O = BH^+ + OH^-$) a kioldó közeg kiindulási pH-ját. A vegyületek oldhatósága a szilárd felület közelében kisebb lehet, mint a kioldó közegben (1. ábra).

A kioldódást befolyásoló tényezők

Egy gyógyszer orális felszívódásának hatékonyságát a kioldódás és az intesztinális membránper-

meábilítás párhuzamos folyamata határozza meg. A gyógyszerek gasztrointesztinális rendszerből történő felszívódásának sebességmeghatározó lépése nagyon gyakran a hatóanyag kioldódása a gyógyszerformából. A hatóanyagok szilárd gyógyszerformákból történő kioldódását – ahogyan az (1) egyenletből is következik – számos fizikai-kémiai és biológiai tényező befolyásolja [4, 5].

Egyensúlyi oldhatóság (telítési koncentráció)

A hatóanyag egyensúlyi oldhatósága a Noyes-Whitney egyenletben egy kulcsfontosságú paraméter, mivel, a diffúziós rétegvastagsággal és a kioldódott hatóanyag-koncentrációval együtt, meghatározza a diffúziós rétegen keresztüli koncentráció-grádiens. Számos fizikai-kémiai és fiziológiai tényező van hatással egy vegyület oldhatóságára a gasztrointesztinális traktusban. Előbbiek közé tartozik az anyag kristályformája, lipofilitása, a vízben való oldhatósága, az ionizációs képessége, a szolubilizálhatósága, a nedvesedési képessége, az utóbbihoz a gasztrointesztinális pH profil, az elfogyasztott ételmyszer, a gyomor-bél traktus perisztaltikája stb.

Számos tanulmány bizonyította, hogy a vegyület kristályformája, polimorfija befolyásolja az oldhatóságot és a kioldódást. A fejlesztés során ezért nagy gondot fordítanak a polimorfia vizsgálatára és a megfelelő polimorf módosulat kiválasztására. Ha a polimorfok között az oldhatóságkülönbség elég nagy, ez hatással lehet a biohasznosíthatóságra és így a terápiás hatásra. Ennek legismertebb, korai irodalmi példái a klóramfenikol-palmitát, a karbamazepin és a digoxin, vagy a közelmúltból a ritonavir esete [6, 7]. Valamennyinél új polimorf módosulat megjelenése befolyásolta a hatást, a klóramfenikolnál az „A” módosulat gyengébb kioldódása okozott gyengébb terápiás hatást szuszpenzióknál, míg a digoxin egy jobban oldódó módosulata toxicitáshoz vezetett. A ritonavirnál egy kevésbé oldódó (Form II.) módosulat megjelenése pedig a formuláció piacról való visszavonását vonta maga után.

Általában nem a termodinamikailag legstabilabb forma oldhatósága a legjobb, hanem épp fordítva, a metastabil formáé. Eppen ezért fennáll a veszély, hogy egy ilyen forma kiválasztása esetén visszaalakulás léphet fel. Ennek kizárására körütekintő vizsgálatra van szükség a fejlesztési fázisban. Ugyanakkor a megnövekedett kioldódás nem mindig eredményezi a biohasznosíthatóság javu-

lását. Példaként említhető az analgetikus hatású diflunizál, melynél a metastabil forma oldhatósága kétszer nagyobb, mint a stabil formáé, ennek ellenére az *in vivo* plazma profiljuk között nincs szignifikáns különbség [8].

A vízben rosszul oldódó, lipofil vegyületek szolubilizálása felületaktív anyaggal szintén javítja a kioldódást. Ha a vékonybélben jelenlévő amfifil molekulák, mint például az epesavak sói, a lecitin és a monooleinek koncentrációja meghaladja a kritikus micella koncentráció (CMC) értékét, akkor bekövetkezhet a vegyületek micelláris szolubilizálása. Számos rosszul oldódó vegyület (pl. grizeofulvin, digoxin, gemfibrozil) egyszerű epesav sókkal történő szolubilizálását leírták már az irodalomban [4]. A fiziológiai koncentrációban hozzáadott epesav sók az alacsony vízoldhatóságú molekulák esetén akár 100-szoros oldhatóságnövekedést is előidézhethetnek. Lecitin, monooleinek, hosszú szénláncú zsírsavak vagy trigliceridek hozzáadásával ez az oldhatóság tovább növelhető. Az epesav só : lecitin arány szintén befolyásolhatja a szolubilizáció mértékét.

Effektív felület

A hatóanyag fizikai-kémiai jellemzői közé tartozik az aktív felület, mely elsősorban a szemcseméretől és a nedvesíthetőségtől függ. Könnyen belátható, hogy a szemcseméret csökkentésével a hatóanyag aktív felülete növelhető. Ez legtöbbször a kioldódási folyamatot javítja az oldódási sebesség növekedése miatt. A felületnövelés eszköze a manapság egyre népszerűbb mikronizálás. Kísérleti adatok szerint ez az oldhatóságot nem, de a kioldódási sebességet szignifikánsan növelheti. Az aktív felület növelése azonban ellentétes hatást is eredményezhet. Az ellentétes hatás, azaz a kioldódási sebesség csökkenése általában akkor lép fel, ha az anyag kis szemcseméretű részecskéi agglomerátumokat képeznek.

A szilárd-folyadék határfelület kialakulásához szükséges a szilárd gyógyszerforma megfelelő nedvesedése. Ezt a folyamatot a szilárd felületen kialakuló nedvesedési peremszöggel jellemezhetjük. A kioldódási vizsgálatok során lényeges lépés a kioldó közeg gázmentesítése, mivel a jelenlévő gázbuborékok az aktív felületet csökkenthetik. A diffúziós réteg vastagságát szintén befolyásolja a részecske mérete és alakja. Kisebb szemcseméret esetén a diffúziós réteg vékonyabb, míg azonos szemcseméretnél szabálytalan alakú részecskéknel lassabb oldódási sebesség tapasztalható.

Kioldóközeg

Az étel, illetve a vele elfogyasztott folyadék növeli a gyomor-bél rendszerben a kioldóközeg mennyiségét, valamint stimulálja a gyomorsav, az epe és a pankreász nedv szekrécióját, ezáltal befolyásolni tudja a hatóanyagok kioldódását.

A gasztrointesztinális folyadék pH értéke az egyik legfontosabb kioldódást befolyásoló paraméter ionizálható vegyületek esetén. A gyomor pH értéke étkezés előtt pH 1 és 2 között változik. Étkezés után a gyomor pH-ja növekszik (pH 5-6), majd a gyomorsav-szekréciónak köszönhetően az étkezést követő 3-4 órán belül visszaáll a kiindulási értékre. Az ionizálható gyógyszermolekulák nagy hányada gyenge bázis ($pK_a < 6$), melyek oldhatósága alacsonyabb a gyomorban, ha közvetlenül étkezés után kerülnek bevitelre, mivel ilyenkor a gyomor kémhatása kevésbé savas. A vékonybél felső szakaszának pH-ja étkezést követően először csökken, az átlagos pH 6,5-ről pH 5,4-re, a duodenumba érkező savas gyomortartalom miatt. Ezt követően a bikarbonát tartalmú pankreász nedv szekréciója visszaállítja a pH-t. Azok a gyenge savak, melyek pK_a értéke kisebb, mint 6 (pl. furoszemid, $pK_{a1} = 3,9$ és $pK_{a2} = 10,2$), a gyomorban rosszul oldódnak, a vékonybél felső szakaszán viszont ionizációjuk miatt az oldhatóságuk növekszik, a kioldódásuk javul. Az ennél is gyengébb savak (pl. paracetamol, $pK_a = 9,6$) a teljes fiziológias pH tartományban töltésmentes, szabad sav formában vannak jelen, így oldhatóságukat és kioldódásukat nem befolyásolja a gasztrointesztinális traktus pH változása. Hasonlóan a $pK_a > 9$ értékű bázisokhoz, amelyek a teljes szakaszon protonált állapotban vannak, így kioldódásuk kedvező.

Egyéb fiziológias jellemzők

A fiziológias körülmények (pl. fiziológias felületaktív anyagok, epe, emésztőnedvek, hidrodinamikai viszonyok) szintén kulcsfontossággal bírnak a hatóanyagok kioldódásában.

Diffúziós készség

A hatóanyagok diffúziós készsége (D) a Stokes-Einstein egyenlet alapján becsülhető:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r} \quad (2)$$

ahol k a Boltzmann állandó, T a hőmérséklet, η a közeg viszkozitása, r a molekula sugara.

A hatóanyag diffúziós készsége és a kioldóközeg viszkozitása fordított arányosságban áll egymással. A gasztrointesztinális folyadék viszkozitása az elfogyasztott étellel növelhető, amely lassíthatja a molekula diffúzióját. A hatás mértéke függ a táplálék összetételétől és az étellel bevitt folyadék térfogatától.

A hatóanyag diffúziója a micelláris szolubilizálással is csökkenthető. Danazol esetén a 15 mM nátrium-taurokolát / 3,75 mM lecitin elegyben mért diffúziós állandó közel 100-szor kisebb, mint a csak nátrium-taurokolátot tartalmazó oldatban. Ennek oka a micelláris átmérő nagymértékű, több mint 50-szeres növekedése [4].

A kioldódás és az oldhatóság kapcsolata

Az oldhatóság és a kioldódás szoros kapcsolatban állnak egymással, melyet a Nernst-Brunner egyenlet is alátámaszt.

A kioldódott szilárd részecskék felületével határos vékony vizes határréteg a sebesség-meghatározó lépés a kioldódás során [9]. A kioldódás addig folytatódik, amíg a hatóanyag koncentrációja a kioldó közegben el nem éri a vegyület egyensúlyi oldhatósági értékét, vagy amíg az összes szilárd részecske fel nem oldódik. Ebből a nézőpontból az oldhatóság a kioldódás hajtóereje. Ebből az is következik, ha a kioldódásvizsgálatkor elegendő anyagmennyiséggel, kellő ideig végezzük a vizsgálatot – különösen rosszul oldódó vegyületeknél – a kioldódási görbe plató szakaszából az egyensúlyi oldhatóság értéke is meghatározható (1. ábra).

A kioldódás vizsgálmódszerei

A kioldódásvizsgálatok mind az originális hatóanyagkutató, mind a generikus készítményfejlesztés során nélkülözhetetlenek. A rendelkezésre álló módszereket csoportosíthatjuk gyógyszerkönyvi és egyéb eljárásokra. Az alábbiakban rövid összefoglalását adjuk a legelterjedtebben alkalmazott eljárásoknak.

I. Gyógyszerkönyvi módszerek

A jelenleg hatályos Magyar Gyógyszerkönyvben (Ph. Hg. VIII.) a szilárd gyógyszerformák hatóanyagának kioldódási vizsgálatára 4 berendezés, a forgókosaras készülék, a forgólapátos készülék, a függőleges mozgású készülék és az átfolyócellás készülék alkalmazása hivatalos [10].

A Gyógyszerkönyvben megtalálható e 4 berendezés részletes leírása, mely magában foglalja a készülékeket felépítő egységek alakjának, méretének és összetételének, valamint a készülékek összeállításának a leírását. Felhívja a figyelmet a vizsgálat során szükséges állandó hőmérséklet ($37 \pm 0,5$ °C) biztosítására, valamint a keverés vagy mozgatás sebességének megadott hibahatáron belüli tartására. Átfolyócellás készülék esetén a pumpának állandó áramlási sebességet kell biztosítania. A Gyógyszerkönyv készülékalkalmassági vizsgálatot is előír, melynek célja annak megállapítása, hogy a kioldódásvizsgálathoz használt készülék megfelel-e a megadott méreteknél és tűréshatároknak. A kritikus vizsgálati paraméterek (pl. a kioldófolyadék térfogata és hőmérséklete, a forgókosaras és a forgólapátos készülékek esetén a forgási sebesség, a függőleges mozgású készüléknél a bemerülési sebesség, az átfolyócellás készüléknél a folyadék áramlási sebessége, mintavételi eszközök és módszerek) rendszeres ellenőrzése is szükséges. Ezek mellett időközönként a kioldókészülék elfogadható teljesítőképességét is meg kell határozni.

A hagyományos, a nyújtott és a késleltetett hatóanyag-leadású szilárd gyógyszerformák kioldódási vizsgálatainak kivitelezése, az eljárások leírása szintén szerepel a Gyógyszerkönyvben. Néhány fontosabb előírást külön is kiemelünk: (1) Amennyiben többszöri mintavétel szükséges, pótoljuk a kivett vizsgálófolyadékot friss 37 °C-os kioldófolyadék részletekkel, vagy ha bizonyítható, hogy a vizsgálófolyadék pótlása nem szükséges, a térfogatváltozást a számítások során vesszük figyelembe; (2) az analízist a megfelelő tartalmi meghatározással végezzük el; (3) amennyiben a vizsgálófolyadék tompítóoldat, a pH-t a megadottól legfeljebb 0,05 pH-egység eltéréssel állítjuk be.

A kioldódási vizsgálatokat, ha más előírás nincs, táblázatokban megadott elfogadási követelmények szerint értékeljük. A kioldódási követelményt a *Q* értékkel adjuk meg, amely a megadott időtartam alatt kioldódott hatóanyag mennyisége a névleges hatóanyagtartalom százalékában kifejezve. Példaként említjük a hagyományos hatóanyag-leadású szilárd gyógyszerformákat, melyeknél, ha más előírás nincs, a hatóanyag legalább 75 %-ának 45 perc alatt ki kell oldódnia (*Q* értéke 75%).

A javasolt kioldófolyadékok összetételét és elkészítési módját a Gyógyszerkönyv ismerteti. A vizsgálófolyadékok kémhatása általában pH 1-8 tartományba esik, indokolt esetben magasabb pH-ra is

I. táblázat

Kioldófolyadékok a 8. Magyar Gyógyszerkönyvben

pH	Kioldófolyadék
1,0	HCl
1,2	HCl, NaCl/KCl
1,5	HCl, NaCl/KCl
4,5	foszfát-, vagy acetát-tompítóoldat
5,5 és 5,8	foszfát-, vagy acetát-tompítóoldat
6,8	foszfát-tompítóoldat
7,2 és 7,5	foszfát-tompítóoldat

szükség lehet. A kioldóközeg leggyakrabban acetát- vagy foszfát-tompítóoldat, savas tartományban pedig, az alacsonyabb pH értékek (pH 1,0-1,5) elérésére sósav-oldatot használunk (I. táblázat). Víz csak akkor alkalmazhatunk vizsgálófolyadékként, ha a pH-változás bizonyítottan nem befolyásolja a kioldódási jellemzőket. Külön említést érdemel még a mesterséges gyomornedv és a mesterséges bélmedv alkalmazása, mint kioldóközeg. Itt a pH beállítás mellett a mesterséges gyomornedv pepszin-port, a mesterséges bélmedv pankréász-port tartalmaz a fiziológiás körülmények jobb megközelítése érdekében.

Fiziológiás körülmények között a kioldóközeg térfogata az elfogyasztott folyadékmennyiségtől és a kiválasztott gyomorsav, epe és pankréász nedv mennyiségétől nagymértékben függ, értéke széles tartományban változhat. Az *in vitro* kioldódási vizsgálatok során az étkezés előtti állapot 500 ml, míg az étkezés utáni állapot 900-1000 ml térfogattal szimulálható.

II. Egyéb módszerek

A gyógyszerkutatás és fejlesztés korai fázisában a gyógyszermolekulák, illetve gyógyszerjelölt-molekulák csak korlátozott mennyiségben állnak rendelkezésre a különféle fizikai-kémiai és biológiai vizsgálatokhoz. Az egyre növekvő igény miatt ezért az utóbbi néhány évben olyan miniatürizált *in vitro* kioldódásvizsgáló módszereket fejlesztettek ki, melyek már kis mennyiségű hatóanyag felhasználásával is alkalmasak az orális alkalmazhatóság előrejelzésére a gyógyszerkutatás korai felfedező fázisában. Az itt bemutatásra kerülő két készülék megfelel ennek a gyógyszerkutatási elvárásnak.

μDISS Profiler PLUS kioldódást vizsgáló készülék

A pION kutató cég elsőként fejlesztett ki olyan kioldódásvizsgáló készüléket, a *μDISS Profiler*

PLUS készüléket (2. ábra), amely mindössze 1 ml-es térfogatban is képes a hatóanyag-kioldódás *in vitro* modellezésére [11-13]. A kioldódást jellemzően 4 ml-es vagy 25 ml-es térfogatú, termosztálható mérőedényben vizsgálhatjuk. A berendezéshez optikai kábelen keresztül diódasoros spektrofotométer van csatlakoztatva, mellyel a hatóanyag-koncentráció időbeni változását követhetjük a kioldófolyadékban. A módszer egyik nagy előnye, hogy nem igényel mintavételezést, ezáltal a mintavételezésből eredő hibák kiküszöbölhetők, és a nagyszámú mérési adatnak köszönhetően részletes kioldódási profil regisztrálható a vegyületekről. A gyors adatgyűjtés és a felhasználóbarát szoftver további előnynek tekinthető. A hagyományos, gyógyszerkönyvi módszerekhez képest a vizsgálni kívánt hatóanyag mennyiségét jelentősen, akár tízezred részére lehet csökkenteni anélkül, hogy ez a mérés minőségének rovására menne. Ez pedig lehetőséget teremt arra, hogy az *in vitro* kioldódást már a gyógyszerfejlesztés korai szakaszában ellenőrizzük, amikor még csak néhány mg hatóanyag áll rendelkezésre. Habár az alkalmazott nagyon kicsi térfogatú kioldóközeg a fiziológiástól eltérő hidrodinamikai körülményeket eredményez, ennek ellenére ezzel a miniaturizált módszerrel reprodukálni lehet a hagyományos módszerrel kapott eredményeket. Huszonhat, különböző kémiai szerkezetű gyógyszermolekula bevonásával elvégzett validálási tanulmány szoros korrelációt ($R^2 = 0,97$) mutatott ki a miniaturizált és a hagyományos módszerekkel kapott intrinszc kioldódási sebesség értékek között. A μ DISS nemcsak az intrinszc kioldódási sebesség meghatározására, hanem polimorf átalakulások

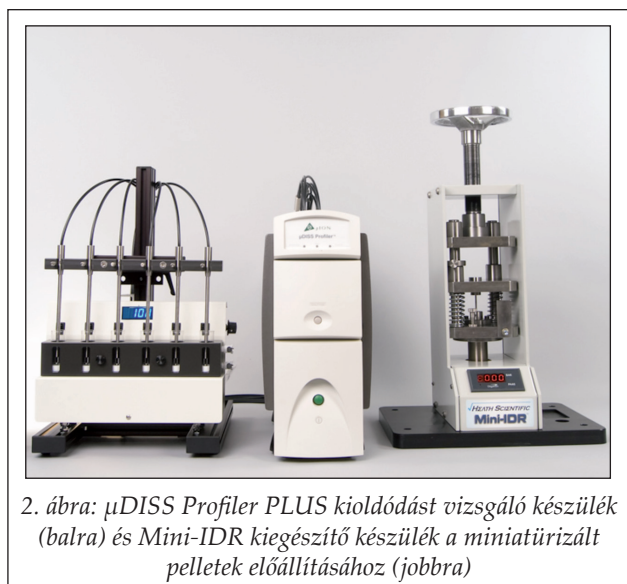
detektálásra, a hatóanyag stabilitásának időbeni nyomonkövetésére, valamint az egyensúlyi oldhatóság meghatározására is alkalmas.

Sirius T3 fizikai-kémiai paraméterek meghatározására alkalmas műszer

A Sirius Analytical Instruments analitikai kutatófejlesztő cég legújabb készüléke a *Sirius T3* (3. ábra), mely elődjéhez, a GLpKa készülékhez hasonlóan felhasználható ionizálható vegyületek fizikai-kémiai paramétereinek vizsgálatára, úgymint a pK_a , $\log P$ és $\log D$ értékek, valamint kinetikai és termodinamikai oldhatóság nagy pontosságú meghatározására [14]. A *Sirius T3* készülék emellett már kioldódásvizsgálatra is alkalmazható. A hatóanyag felszabadulását és oldatba kerülését *in situ* követhetjük UV spektrofotométer segítségével. A kísérleteket 20 ml, vagy ennél kisebb folyadéktérfogatban végezhetjük, melyhez általában mindössze 5 mg hatóanyag felhasználása szükséges. A megfelelő kioldófolyadékban elvégzett vizsgálatok alkalmasak a gasztrointesztinális kioldódás modellezésére.

Kioldódás vizsgálata biomimetikus közegben

Ha a kioldódási vizsgálatokat a hatóanyag *in vivo* farmakokinetikai paramétereinek előrejelzésére kívánjuk használni, fontos, hogy az *in vitro* kísérletek minél jobban megközelítsék az *in vivo* körülményeket. A korábbi eljárásokban használt és a gyógyszerkönyvekben előírt kioldóközegek adott pH-jú tompítóoldatok (vagy ezekhez adott emésztőenzim-tartalmú oldatok) csak a pH viszonyokat szimulálják a gasztrointesztinális traktus egy-egy kompartmentjében, de nem képesek a szolubilizáló hatást és az étkezés okozta körülményeket tükrözni. Elsőként Dressman és kutatócsoportja fejlesztett ki és publikált 1998-ban olyan bioreleváns gasztrointesztinális közeget, mely az étkezés előtti (FaSSIF – *Fasted State Simulated Intestinal Fluid*) és az étkezés utáni (FeSSIF – *Fed State Simulated Intestinal Fluid*) állapotban modellezi a pH és szolubilizálási viszonyokat a vékonybél felső szakaszán [15]. A FaSSIF nátrium-hidroxidot, nátrium-dihidrogénfoszfátot, nátrium-kloridot, desztillált vizet, nátrium-taurokolátot (3 mM) és lecitint (0,75 mM) tartalmaz. A közeg pH értéke 6,50 (a pontos pH-t 1 M NaOH- vagy 1 M HCl-oldattal állítjuk be), ozmolalitása ~ 270 mOsmol/kg. A FeSSIF nátrium-hidroxidból, ecetsavból, nátrium-kloridból, desztillált vízből, valamint a ma-



2. ábra: μ DISS Profiler PLUS kioldódást vizsgáló készülék (balra) és Mini-IDR kiegészítő készülék a miniaturizált pelletek előállításához (jobbba)



3. ábra: Sirius T3 fizikai-kémiai paraméterek meghatározására alkalmas műszer

gasabb koncentrációjú nátrium-taurokoláttól (15 mM) és lecitinből (3,75 mM) áll. A közeg pH értéke 5,00, ozmolalitása ~ 670 mOsmol/kg. Az oldatok elkészítése viszonylag egyszerű. A megfelelő „blank” puffer elkészítése után, a szükséges mennyiségű nátrium-taurokoláttal feloldjuk benne, majd állandó keverés mellett hozzáadjuk a lecitin diklórmetános, előre elkészített oldatát. Ezt követően a szerves oldószert vákuum rotadesztillátorban 40 °C-on 15 percig, 250 mbar nyomáson elűzzük. A nyomás fokozatos 100 mbar értékre való csökkentése mellett további 15 percig desztilláljuk. Ezzel tiszta, esetleg enyhén opálos micelláris oldatokat nyerünk, melynek nincs diklórmetán szaga. Az oldatok stabilitása a kioldódásvizsgálat szokásos, maximum 72 órás időtartama alatt megfelelő. Tovább könnyíti és gyorsítja a rutinvizsgálatok kivitelezhetőségét, hogy a kereskedelemben készen kapható liofilizált SIF por [16], mely minden komponenst tartalmaz, csak megfelelő tompítóoldatban való oldást igényel.

A fenti biomimetikus közeg jelentősen befolyásolja a vegyület oldhatóságát, ezáltal kioldódását, különösen gyengén szolvatálódó, rosszul nedvesedő anyagok esetében. Általános tendencia, hogy a kioldódás javul a taurokolát/lecitin micellák szolubilizáló hatása folytán. Számos tanulmány vizsgálta a vízben rosszul oldódó vegyületek kioldódását biomimetikus közegben, akár egyedi hatóanyagok (pl. glibenklamid, piroxikám) [17,18], akár általános konzekvencia levonása céljából [19]. Ez utóbbi, 10, BCS II. osztályú (jól permeáló, de rosszul oldódó) vegyület vizsgálatakor megállapította, hogy általában (8/10 vegyületnél) magasabb oldhatóságot és IDR értéket tapasztaltak FaSSIF és FeSSIF oldószerekben, mint a megfelelő

„blank” pufferben. A semleges vagy az adott pH-n pozitív töltésű formában lévő vegyületeknél a kioldódás-növekedés nagyobb mértékű volt, mivel érvényesülhetett a nátrium-taurokoláttól és lecitinből képződött – túlnyomórészt negatív töltésű – micellák szolubilizáló hatása. A savak esetében az ionizáció volt a meghatározó a kioldódás alakulásában, azaz a nagyobb mértékű ionizáció növelte a kioldódást, míg olyan vegyületeknél, amelyek a béltraktus pH: 5-7,5 tartományában teljes mértékben anionos állapotban vannak, a szolubilizáció nem, vagy csak csekély mértékben érvényesült a negatív részecskék tasztító hatása miatt.

A fiziológias körülményeket jobban megközelítő kioldóközeg kidolgozásával többen próbálkoztak a gyomornedv esetében is. A gyógyszerkönyvi modell SGF (*Simulated Gastric Fluid*) sósavból és NaCl-ből készített (pH = 1,2) oldat, melyhez pepszin-port adnak. Itt sem érvényesül a szolubilizáló hatás, így az éhomi állapotot szimuláló mesterséges gyomornedv, FaSSGF (*Fasted State Simulated Gastric Fluid*) Vertzoni és munkatársai által [20] javasolt összetétele már tartalmaz alacsony koncentrációban epesav sót és lecitint is. Ennek pH értéke 1,6, felületi feszültsége 42,6 nN/m, mely jól közelíti a fiziológias viszonyokat. Nem képes azonban az étkezést követő és az emésztés folyamatának következtében változó pH és ozmolaritási viszonyok visszaadására. A közelmúltban egy javított modellre tettek javaslatot szisztematikus és igen körültekintő vizsgálatok nyomán Jantratid és munkatársai [21]. A FeSSGF három különböző összetételét dolgozták ki, melyekkel az emésztés „korai” (0-75 perc), „középső” (75-165 perc) és „késői” (165 perc után) szakaszát kívánták szimulálni. Az oldatokban tej és különböző pH értékű pufferek elegyítésével három pH értéket (korai: 6,4; középső: 5; késői: 3) és három eltérő tej : puffer arányt alkalmaztak (korai: 1:0; középső: 1:1; késői: 1:3). Az így nyert mesterséges kioldóközégek mintegy pillanatfelvételt („snapshot”) adtak a gyógyszer várható viselkedéséről étkezést követő bevétel esetén. A vizsgálatok alapján a „középső” FeSSGF látszik a legalkalmasabbnak az étel gyógyszer-kioldódást befolyásoló hatásának előrejelzésére. Pontos összetétele a következő: 237,02 mM NaCl, 17,12 mM CH_3COOH , 29,75 mM CH_3COONa , tej és puffer arány 1:1, pH 5,0-re beállítva HCl-val vagy NaOH-dal. Ozmolalitása 400 mOsmol/kg.

Léteznek olyan dinamikus kioldódási modellek is, ahol a fenti fiziológias körülmények mellett még a bélperisztaltika és a tranzitidő hatását is képesek figyelembe venni [22]. Ezen módszerek rutinszerű használatáról még nem beszélhetünk.

Összességében elmondható, hogy a biomimetikus közegek alkalmazása a gyógyszerek oldhatóság- és kioldódásvizsgálata során segíti az *in vivo* felszívódásuk becslését, szorosabb *in vitro/in vivo* korrelációt eredményez. Számos esetben igazolták, hogy – összehasonlítva a mesterséges gyomornedvvel vagy a mesterséges bélnedvvel – a bioreleváns közegben kapott eredmények pontosabb *in vivo* farmakokinetikai profil felállítását teszik lehetővé. Emellett fontos szerepet játszhatnak a gyógyszerformulálásban és az optimális dózis kiválasztásában. E helyütt megemlíjtük azt is, hogy néhány újabb tanulmány felveti azt a kérdést, hogy vajon a biomimetikus közegben végzett kioldódási vizsgálatok képesek-e önmagukban is hatékony *in vivo* farmakokinetika becslésére, főként a BCS rendszer II. osztályába tartozó farmakonok (rossz oldhatóságú, de jó permeabilitású hatóanyagok) esetén, ahol a felszívódást elsősorban a kioldódás sebessége és mértéke határozza meg [23].

A legújabb kutatások célja olyan alternatív bioreleváns közegek kifejlesztése, melyek elkészítése egyszerűbb, beszerzése olcsóbb, nagyobb stabilitással rendelkeznek, ugyanakkor továbbra is képesek az *in vivo* kioldódás megbízható előrejelzésére [24]. Mindezen igények együttes teljesülése elősegítheti alkalmazásukat a felfedező gyógyszerkutatásban.

Köszönetnyilvánítás

Ez a munka az Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok (pályázat száma: OTKA K 78102) támogatásával valósult meg.

IRODALOM

1. Baka, E.: Acta Pharm. Hung. 81, 18-28 (2011).
2. Völgyi, G., Baka, E., Kovács, M., Takácsné Novák, K.: Acta Pharm. Hung. 81, 87-95 (2011).

3. Sugano, K., Okazaki, A., Sugimoto, S., Tavnornipap, S., Omura, A., Mano, T.: Drug Metab. Pharmacokinet. 22, 225-254 (2007).
4. Hörter, D., Dressman, J.B.: Adv. Drug Deliver. Rev. 46, 75-87 (2001).
5. Dressman, J.B., Amidon, G.L., Reppas, C., Shah, V.P.: Pharm. Res. 15, 11-22 (1998).
6. Brittain, H.G., Grant, D.J.W.: Effects of polymorphism and solid-state solvation on solubility and dissolution rate. In: Brittain, H.G. (ed): Polymorphism in pharmaceutical solids. Marcel Dekker, 1999. pp. 279-330.
7. Bauer, J., Spanton, S., Henry, R., Quick, J., Dziki, W., Porter, W., Morris, J.: Pharm. Res. 18, 859-866 (2001).
8. Dresse, A., Gérard, M.A., Lays, A., Tempero, K.F., Verhaest, L.: Pharm. Acta Helv. 53, 177-181 (1978).
9. Avdeef, A., Voloboy, D., Foreman, A.: Dissolution and solubility. In: Taylor, J.B., Trigg, D.J. (eds.): Comprehensive Medicinal Chemistry II. Elsevier, 2007. pp. 399-423.
10. Magyar Gyógyszerkönyv VIII. kiadás, IV. A kötet (2010).
11. Avdeef, A., Tsinman, O.: Pharm. Res. 25, 2613-2627 (2008).
12. Tsinman, K., Avdeef, A., Tsinman, O., Voloboy, D.: Pharm. Res. 26, 2093-2100 (2009).
13. Avdeef, A., Tsinman, K., Tsinman, O., Sun, N., Voloboy, D.: Chem. Biodivers. 6, 1796-1811 (2009).
14. www.sirius-analytical.com
15. Galia, E., Nicolaidis, E., Hörter, D., Löbenberg, R., Reppas, C., Dressman, J.B.: Pharm. Res. 15, 698-705 (1998).
16. www.biorelevant.com
17. Wei, H., Löbenberg R.: Eur. J. Pharm. Sci. 29, 45-52 (2006).
18. Jinno, J., Oh, D., Crison, J.R., Amidon, G.L.: J. Pharm. Sci. 89, 268-274 (2000).
19. Fagerberg, J.H., Tsinman, O., Sun, N., Tsinman, K., Avdeef, A., Bergström, C.A.S.: Mol. Pharm. 7, 1419-1430 (2010).
20. Vertzoni, M., Dressman J., Butler, J., Hempenstall, J., Reppas, C.: Eur. J. Pharmaceut. Biopharmaceut. 60, 413-417 (2005).
21. Jantratid, E., Janssen, N., Reppas, C., Dressman, J.B.: Pharm. Res. 25, 1663-1676 (2008).
22. Čulen, M., Dohnal, J., Jampilek, J., Řezáčová, A.: Dynamic dissolution testing in R&D. Second World Conference on Physico-Chemical Methods in Drug Discovery and Development. (2011) OP5.
23. Frank, K.J., Westedt, U., Rosenblatt, K.M., Hölig, P., Rosenberg, J., Mägerlein, M., Brandl, M., Fricker, G.: Eur. J. Pharm. Sci. 47, 16-20 (2012).
24. Clarysse, S., Brouwers, J., Tack, J., Annaert, P., Augustijns, P.: Eur. J. Pharm. Sci. 43, 260-269 (2011).

Érkezett: 2012. szeptember 12.

Az antitrombotikus hatású idraparinux pentaszacharid új szintézise és szulfonsav tartalmú analogonjainak előállítása

HERCZEG MIHÁLY

Debreceni Egyetem, Természettudományi és Technológiai Kar, Szerves Kémiai Tanszék, DE-MTA Szénhidrátkémiai Kutatócsoport, 4032, Debrecen Egyetem tér 1.

Levelezési cím: herczeg.mihaly@science.unideb.hu

Summary

Herczeg, M.: *New synthesis of the anticoagulant pentasaccharide idraparinux and preparation of its analogues containing sulfonic acid moieties*

Two novel synthetic pathways were elaborated for the preparation of idraparinux, a heparin-related fully O-sulfated, O-methylated anticoagulant pentasaccharide. Both methods based upon a [2+3] block synthesis utilizing the same trisaccharide acceptor which was coupled to either a uronic acid disaccharide donor or its non-oxidized precursor. Two bioisosteric sulfonic acid analogues of idraparinux were also prepared, in which two or three primary sulfate esters were replaced by sodium-sulfonatomethyl moieties. The sulfonic acid groups were formed on a monosaccharide level and the obtained carbohydrate sulfonic acid esters were found to be excellent donors and acceptors in the glycosylation reactions. The disulfonic-acid analogue was prepared in a [2+3] block synthesis by using a trisaccharide disulfonic acid as an acceptor and a glucuronide disaccharide as a donor. For the synthesis of the pentasaccharide trisulfonic acid, a more-efficient approach, which involved elongation of the trisaccharide acceptor with a non-oxidized precursor of the glucuronic acid followed by post-glycosidation oxidation at the tetrasaccharide level and a subsequent [1+4] coupling reaction, was elaborated. In vitro evaluation of the anticoagulant activity of the reference compound idraparinux and the new sulfonic acid derivatives revealed that the disulfonate analogue inhibited the blood-coagulation-proteinase factor Xa with outstanding efficacy; however, the introduction of the third sulfonic acid moiety resulted in a notable decrease in the anti-Xa activity.

Keywords: anticoagulants, carbohydrates, glycosylation, sulfonic acid, uronic acids.

Összefoglalás

Kidolgoztunk két új reakcióutat egy heparin-analóg, teljesen O-szulfatált és O-metilezett véralvadásgátló pentaszacharid, az idraparinux előállítására. Mindkét módszer alapja egy [2+3] blokk-szintézis ugyanazon triszacharid akceptor felhasználásával, amit elsőként egy uronsav tartalmú diszacharid donorral, majd egy uronsav funkciót nem tartalmazó prekursorával glikozileztünk. Előállítottuk az idraparinux két szulfonsav-tartalmú analógját is, amelyekben két vagy három primer szulfátészter-csoportot helyettesítettünk szulfonátometil-csoporttal. A szulfonsav-csoportokat monoszacharid szinten alakítottuk ki és az így előállított szénhidrát szulfonsav-észtereket sikeresen használtuk donorként és akceptorként a glikozilezési reakciókban. A két szulfonsav-csoportot tartalmazó analógot [2+3] blokk-szintézissel állítottuk elő, melyhez egy két szulfonsav egységet tartalmazó triszacharid akceptort és egy glükuronsav tartalmú diszacharid donort használtunk. A pentaszacharid-triszulfonsavat egy hatékonyabb, [1+1+3]-as szintézissel állítottuk elő, felhasználva a két szulfonsav egységet tartalmazó triszacharid akceptort, amit elsőként egy uronsavat nem tartalmazó monoszacharid donorral kapcsoltunk. Az uronsav funkciót tetraszacharid szinten szelektív oxidációs reakcióban alakítottuk ki, majd sikeresen előállítottuk a három szulfonsav egységet tartalmazó pentaszacharidot. In vitro vizsgálatokkal meghatároztuk az előállított szulfonsav származékok és az idraparinux Xa faktor-gátló hatását. A pentaszacharid-diszulfonsav jobb gátló hatást mutatott, mint a referenciamolekula, viszont a harmadik szulfonsav-csoport bevezetése drasztikusan lerontotta az anti-Xa aktivitást.

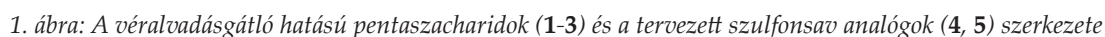
Kulcsszavak: antikoaguláns, szénhidrátok, glikozilezés, szulfonsav, uronsavak.

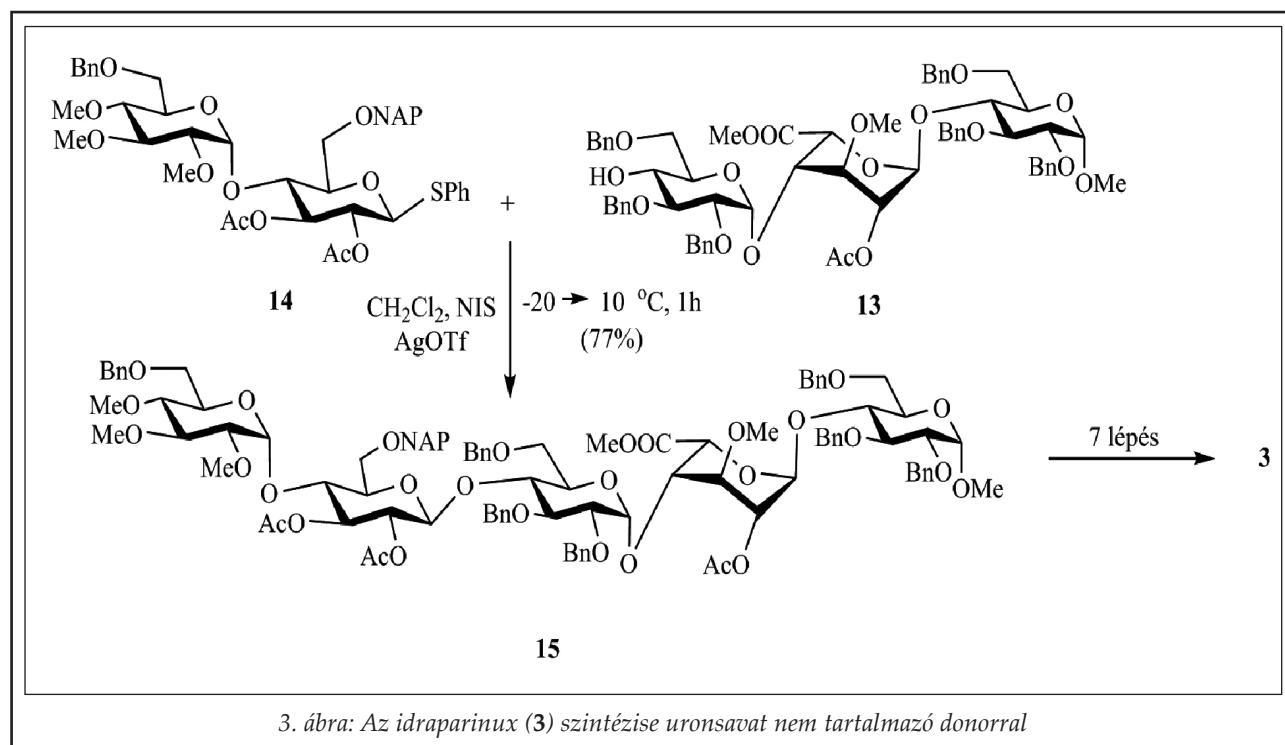
Bevezetés

Az állati eredetű heparin poliszacharidot 1937-től használják a klinikai gyakorlatban véralvadásgátló szerként. Hatását úgy fejtí ki, hogy alloszterikusan aktivál egy enzim-inhibitor fehérjét, az antitrombint (AT), és ez az aktivált fehérje gátolja a véralvadási kaszkád két proteázát, a trombint és a Xa faktort. A heparin-antitrombin kötődésben

nagy szerepe van a poliszacharid anionos csoportjai (szulfát- és karboxilcsoportok) és a fehérje bázikus aminosavai (arginin, lizin) között kialakuló erős ionos kölcsönhatásoknak.

Az 1980-as években azonosították a heparin azon minimális egységét (1. ábra, DEFGH pentaszacharid, 1) [1], amely az AT aktiválása és a Xa faktor szelektív gátlása révén képes véralvadásgátló hatást kifejteni. Francia és holland kutatók 55





lépéses kémiai szintézissel előállították a pentaszacharid módosított analógiát (2) [2], amely véralvadásgátló gyógyszerként 2002 óta van forgalomban Arixtra® néven.

A második generációs szintetikus antitrombotikumok vezérmolekulájának tekinthető a „nem-glikozaminoglikán” típusú idraparinux (3) [3], amely nagyobb antikoaguláns aktivitással és hosszabb felezési idővel rendelkezik, mint az Arixtra®, ugyanakkor az előállítása sokkal egyszerűbb.

A Debreceni Egyetem Szerves Kémiai Tanszékén működő MTA Szénhidrátkémiai Kutatócsoportban az idraparinux vezérmolekulából kiindulva új típusú antitrombotikumok szintézisét kutatjuk. Célunk a pentaszacharid-antitrombin kötődésben kulcsszerepet játszó szulfátészterek szisztematikus cseréjével szulfonsav-típusú véralvadásgátlók előállítása. A szulfátészterek ($-OSO_3^-$) helyett bioizoszter szulfonátometilcsoportot ($-CH_2SO_3^-$) tartalmazó célvegyületek ellenállnak az észterázok hidrolitikus hatásának, ezért stabilabbak, és valószínűleg hosszabb felezési idővel fejtik ki hatásukat, mint az eddig ismert származékok.

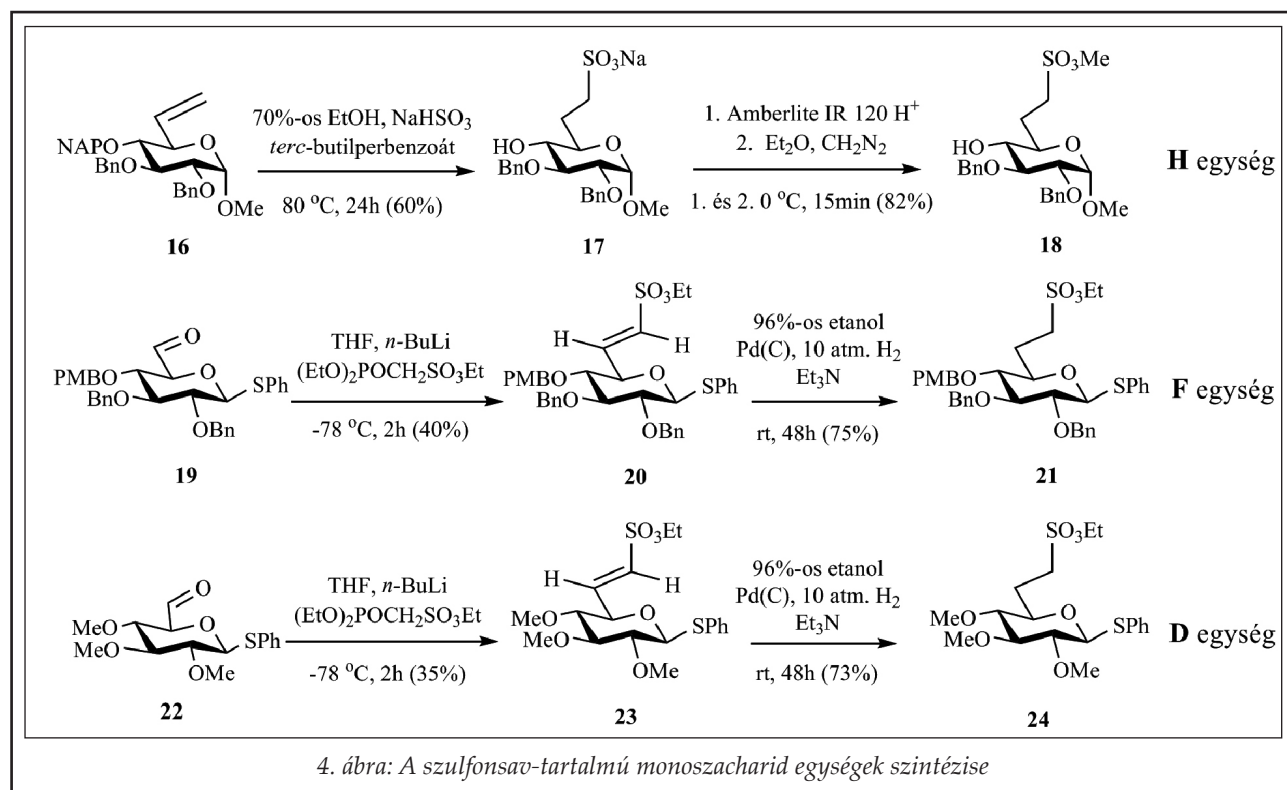
E kutatások keretében előállítottuk az idraparinux két szulfonsav mimetikumát (4, 5), amelyekben az F, H és a D, F, H glükóz egységek 6-O-szulfát-csoportjait metánszulfonsav-csoportra cseréltük. A szulfonsav mimetikumok szintézisével párhuzamosan az idraparinuxot (3) is előállítottuk, hogy a biológiai vizsgálatokhoz referencia molekulaként alkalmazhassuk.

Az idraparinux előállítása

Az idraparinuxot két új úton is előállítottuk, mindkét esetben [2+3]-as blokk-szintézist alkalmaztunk. Az első szintézishez a 6 monoszacharid donor és a 7 L-iduronsav akceptor felhasználásával előállítottuk a 10 diszacharid donort (2. ábra) [4, 5].

A 13 triszacharid akceptort az anomer-keverék diszacharid donor (10) és az irodalomból már ismert 11 monoszacharid akceptor sztereoselektív glikozilezési reakciójával állítottuk elő, a kívánt terméket oszlopkromatográfiás tisztítással nyertük ki a reakcióelegyből. A kapcsolási reakció érdekessége, hogy az alkalmazott körülmények között az F egység 4-es pozíciójában levő 4-metoxibenzil-csoport (PMB) lehasadt, így a képződő triszacharidot közvetlenül tudtuk használni akceptorként. A 12 diszacharid donor és a 13 triszacharid akceptor kapcsolásával sikeresen előállítottuk a várt védett pentaszacharidot, amelyből a védőcsoportok eltávolítása és a szükséges metiléter és szulfátészter szubsztituensek kialakítása után nyertük a 3 célvegyületet.

Az glükuronsav tartalmú donor (12) csökkent reaktivitása miatt a [2+3]-as glikozilezési lépés kis hatékonyságú volt (46%), ezért úgy döntöttünk, hogy a kapcsolást egy uronsavat nem tartalmazó donor molekulával is megismételjük. Az újabb szintézishez előállítottuk a 14 diszacharid donort (3. ábra). Az előző szintézisben is felhasznált tri-



szacharid akceptor (**13**) és a glükuronsavat nem tartalmazó donor (**14**) reakciója kiváló hozammal (77%) eredményezte a védett pentaszacharidot (**15**), amit 7 lépésben alakítottunk át a **3** végtermékké. Az újabb szintézissel, melynek során a D-glükóz egység glükuronsavvá történő oxidációját pentaszacharid szinten hajtottuk végre, jelentős hozamnövekedést sikerült elérni.

A szulfonsav-tartalmú pentaszacharidok előállítása

A szulfonátometil-csoportok kialakítását monoszacharid szinten valósítottuk meg az idraparinux szintézisének előállított származékok felhasználásával (4. ábra). A **H** egység (**18**) [6, 7] esetében NaHSO₃ addícióval, a **D** (**24**) és **F** (**21**) egységek esetében pedig Wadsworth-Horner-Emmons reakcióval vezettük be a szulfonsav-csoportot. A **H** egységet csak akceptorként, a **D** egységet csak donorként, az **F** egységet pedig mindkét szerepben sikeresen használtuk.

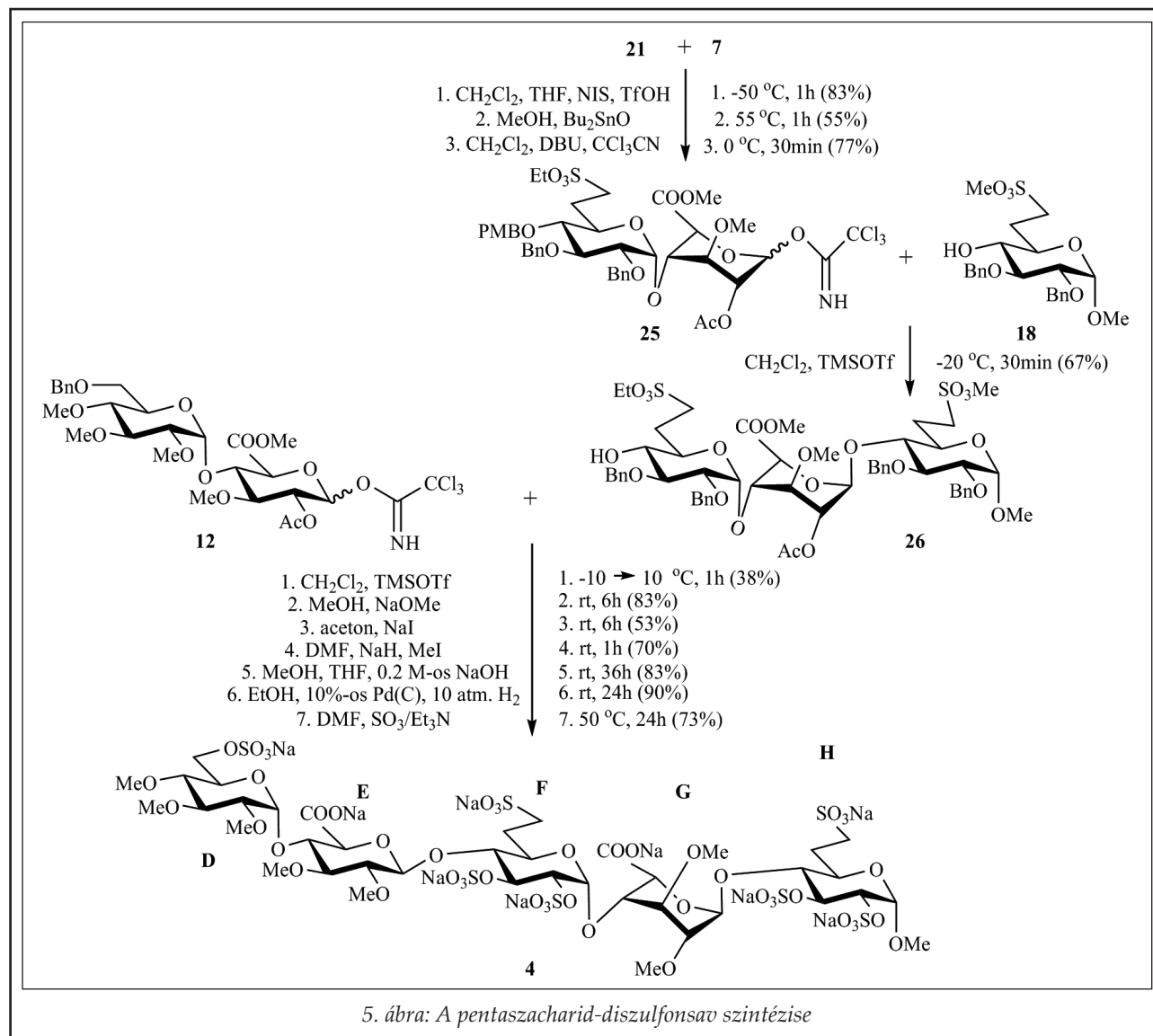
a) A pentaszacharid-diszulfonsav szintézise

[2+3]-as blokk szintézissel, glükuronsav tartalmú donor felhasználásával történt a védett pentaszacharid előállítása. Ehhez elsőként a **21** szulfonsav-tartalmú monoszacharid donorral gliko-

zileztük a már meglévő 7 iduronsav akceptort (5. ábra). A reakcióban jó hozammal és sztereoszелеktivással képződött az α -interglikozidos kötetést tartalmazó diszacharid, amelyet donorrá (**25**) alakítottunk és kapcsoltunk a **18** szulfonsav-tartalmú monoszacharid akceptorkal. A glikozilezés körülményei között ebben az esetben is lehasadt a 4-metoxibenzil-csoport (PMB), ezért a képződött triszacharidot (**26**) további átalakítás nélkül tudtuk használni akceptorként. A **26** triszacharidot glikozileztük a már korábban előállított **12** glükuronsav tartalmú diszacharid donorral. A kapcsolás során a várt védett pentaszacharid keletkezett, de csak alacsony hozammal. A továbbiakban a végleges védőcsoportok kialakításával előállítottuk az idraparinux első szulfonsav analógját (**4**) [8].

b) A pentaszacharid-triszulfonsav előállítása

A triszulfonsav-tartalmú mimetikumot [1+1+3]-as szintézissel állítottuk elő (6. ábra). Először a **27** monoszacharid donort kapcsoltunk a már meglévő **26** triszacharid akceptorkal. A képződött tetraszacharidról savas hidrolízissel eltávolítottuk a 4-metoxibenzilidén-csoportot, majd szelektív oxidációs reakcióban kialakítottuk a glükuronsavat. Az így előállított tetraszacharid akceptort



(28) glikozileztük a **24** szulfonsav-tartalmú monoszacharid donorral. A kapcsolási reakcióban jó hozammal és sztereoszelektivitással kaptuk a védett pentaszacharidot. Végül a védőcsoportok szükséges átalakításával sikeresen előállítottuk az idraparinux triszulfonsav analógját (**5**).

Az előállított pentaszacharidok Xa faktor gátlása

A DEOEC Klinikai Biokémiai és Molekuláris Patológiai Intézetével együttműködve megvizsgáltuk az előállított pentaszacharidok véralvadás-gátló hatását. A mérések során meghatároztuk az Arixtra® (2), az általunk előállított idraparinux (3) és a két szulfonsav-tartalmú pentaszacharid (4, 5) anti-Xa aktivitását. A mért értékeket a koncentráció függvényében ábrázoltuk, és a mérési pontokra illesztett egyenesek meredekségéből meghatá-

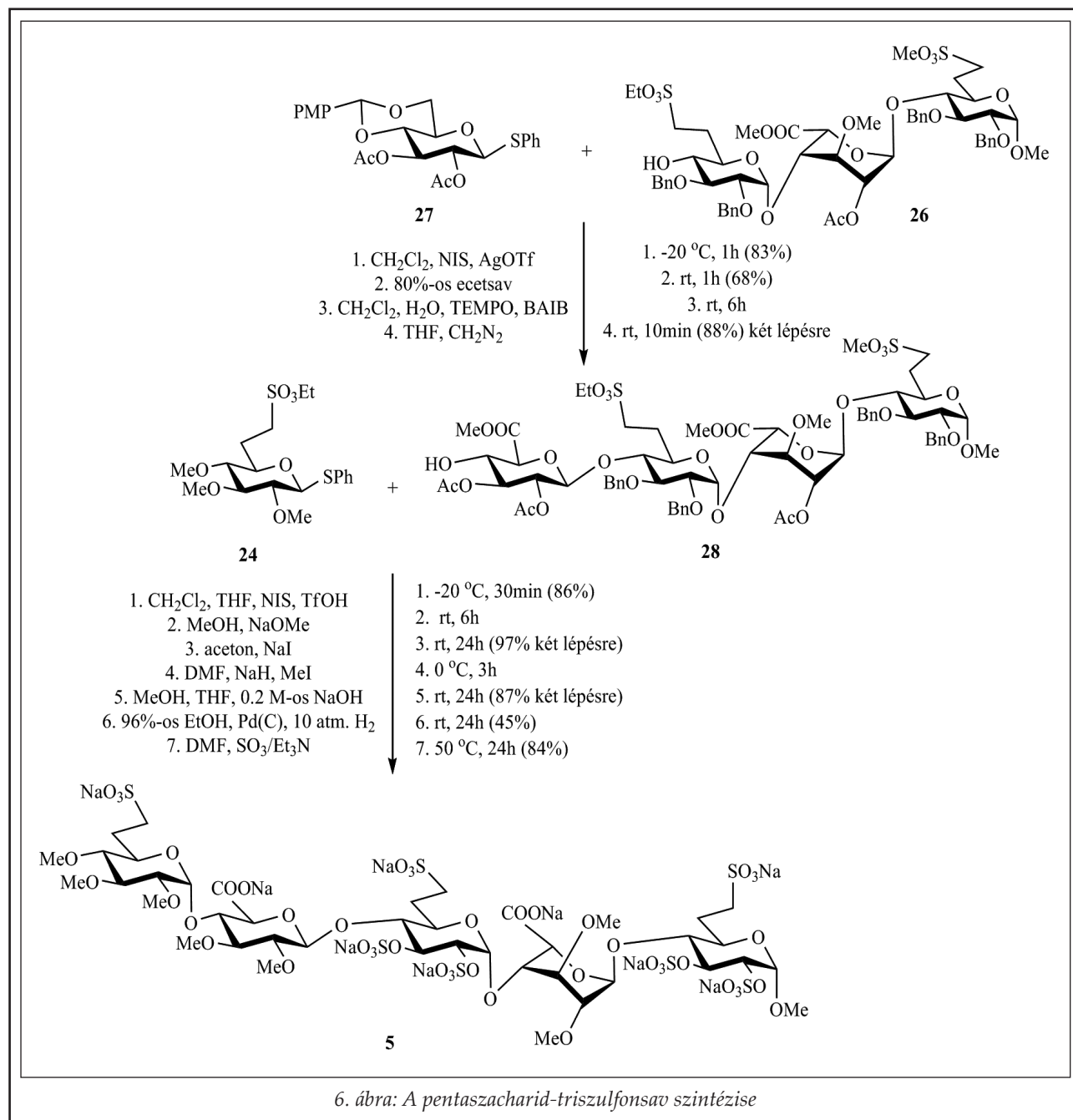
roztuk a heparinhoz viszonyított fajlagos anti-Xa aktivitásokat (I. táblázat).

A táblázat adataiból jól látható, hogy az E és F egység 6-os helyzetében levő szulfátészter-csoportok helyettesítése szulfonátometil-csoporttal nem rontotta le a véralvadásgátló hatást, sőt a pentszacharid-diszulfonsav aktivitása kis mértékben jobbnak bizonyult, mint az idraparinux aktivitása. Ugyanakkor a D egységen kialakított újabb szul-

I. táblázat

A pentaszacharidok anti-Xa aktivitása

	Anti-Xa aktivitás (U/mg)
Arixtra® (2)	1195±189
idraparinax (3)	1911±193
pentaszacharid-diszulfonsav (4)	2153±153
pentaszacharid-triszulfonsav (5)	384±139



fonsav az inhibíciós hatást nagymértékben leron-totta.

Az eredmények értékelése

Összegzésként elmondható, hogy sikerült kidolgozni két új és hatékony reakcióutat az idraparinux előállítására. Az irodalmi példákkal összehasonlítva elmondhatjuk, hogy az új szintézisutak egyszerűen előállítható monoszacharid-egységeket igényelnek, és a közös intermediereknek köszönhetően kevesebb lépést igényel a pentaszacharid előállítása. Nagy előnye továbbá a második módszernek, hogy

a glükuronsav kialakítása pentaszacharid szinten történt, elkerülve ezzel az uronsav építőelem hosszadalmas szintézisét és a glükuronsav-tartalmú diszacharid egység donorként való felhasználását.

Előállítottuk az idraparinux két bioizoszter szulfonsav mimetikumát, egy diszulfonsav- és egy triszulfonsav-tartalmú pentaszacharidot. Ezek az első olyan heparin-analóg oligoszacharidok, melyek egyszerre tartalmaznak karbonsav és szulfonsav-csoportokat. A pentaszacharidokhoz szulfonsav-tartalmú monoszacharid építőelemeket állítottunk elő, amelyeket a szintézisek során donorként és akceptorként is felhasználtunk. Meghatároztuk

az általunk előállított molekulák véralvadásgátló hatásának mértékét. A diszulfonsav-tartalmú pentaszacharid az idraparinuxnál jobb anti-Xa aktivitást mutatott, a triszulfonsav-tartalmú mimetikum viszont jóval gyengébb Xa-gátlónak bizonyult. Tehát a szulfátészter-csoportok helyettesíthetők szulfonsav-csoportokkal, de az aktivitás mértékének szempontjából nagyon lényeges, hogy a helyettesített csoportok melyik pozícióban vannak.

Az alkalmazott vizsgálati módszerek

A szintetikus munka során a reakciók követésére, az anyagok tisztaságának ellenőrzésére és a termékarányok meghatározására vékonyréteg kromatográfiás módszert használtunk, a nyerstermékek tisztítását és az izomerek szétválasztását kristályosítással, valamint oszlopkromatográfiával hajtottuk végre. Az előállított vegyületek jellemzésére, azonosítására és szerkezetének igazolására elemanalízist, olvadáspont- és fajlagos forgatóképesség meghatározást, egy- és kétdimenziós (^1H - ^1H -COSY, ^{13}C - ^1H -HSQC, TOCSY, ROESY) NMR spektroszkópiát és MALDI/ESI-TOF tömegspektrometriai módszert használtunk.

A Xa faktor gátlási méréseket Siemens BCS-XP automata koagulométeren végeztük Berichrom[®] Heparin kromogén-assay módszerrel, normál humán plazma felhasználásával. A pentaszacharidokból 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ koncentrációjú törzsoldatokat készítettünk fiziológiás sóoldattal. A méréseket 0.05-0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ koncentrációtartományban végeztük, 4 koncentráció-értéken, ehhez a törzsoldatot fiziológiás sóoldattal hígítottuk, majd 50 μl mintát adtunk 950 μl humán vérplazmához.

A mért minta összetétele:

- 15 μl pentaszacharid tartalmú plazma minta,
- 15 μl AT-III reagens,
- 150 μl Xa faktor reagens,
- 20 μl víz.

Majd 1 perc inkubálás következett +37 °C-on, végül 30 μl kromogén szubsztrát hozzáadását követően meghatároztuk az abszorbancia változást 405 nm-en. A kalibráció heparin standardra történt.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni tudományos témavezetőmnek, *Prof. Dr. Lipták András* akadémikus úrnak áldozatos munkájáért, mellyel tudományos előmenetelemet segítette. Köszönettel tartozom továbbá *Prof. Dr. Antus Sándor* akadémikus úrnak és *Dr. Borbás Anikó* egyetemi docensnek, akik munkám során mindvégig segítettek, támogatnak és tanítottak. Köszönöm *Prof. Dr. Kappelmayer János* egyetemi tanárnak és *Dr. Bereczky Zsuzsanna* egyetemi docensnek a Xa faktor gátlás-mérésekben nyújtott segítségüket. Külön köszönet a kutatás anyagi támogatóinak: K62802 (OTKA), TÁMOP (4.2.1./B-09/1/KONV-2010-0007).

IRODALOM

1. van Boeckel, C. A. A., Petitou M.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 32, 1671-1690 (1993).
2. Petitou, M., van Boeckel, C. A. A.: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 43, 3118-3133 (2004).
3. Westerduin, P., van Boeckel, C. A. A., Basten, J. E. M., Broekhoven, M. A., Lucas, H., Rood, A., van der Heijden, H., van Amsterdam, R. G. M., van Dinther, T. G., Meuleman, D. G., Visser, A., Vogel, G. M. T., Damm, J. B. L., Overklist, G. T.: *Bioorg. Med. Chem.*, 2, 1267-1280 (1994).
4. Lázár, L., Herczeg, M., Fekete, A., Borbás, A., Lipták, A., Antus, S.: *Tetrahedron Lett.*, 51, 6711-6714 (2010).
5. Lázár, L., Mező, E., Herczeg, M., Lipták, A., Antus, S., Borbás, A.: *Tetrahedron*, 68, 7386-7399 (2012).
6. Herczeg, M., Lázár, L., Borbás, A., Lipták, A., Antus S.: *Org. Lett.*, 12, 2619-2622 (2009).
7. Herczeg, M., Lázár, L., Mándi, A., Borbás, A., Komáromi, I., Lipták, A., Antus, S.: *Carbohydr. Res.*, 346, 1827-1836 (2011).
8. Herczeg, M., Lázár, L., Bereczky, Zs., Kövér, K. E., Timári, I., Kappelmayer, J., Lipták, A., Antus, S., Borbás, A.: *Chem. Eur. J.*, 18, 10643-10652 (2012).

Érkezett: 2012. szeptember 21.

3rd International Regulatory Workshop on A to Z on Bioequivalence, Bioanalysis, Dissolution and Biosimilarity

Öt kontinens harmincnegyzs országából több mint kétszázhetven résztvevő érkezett a „3rd International Regulatory Workshop on A to Z on Bioequivalence, Bioanalysis, Dissolution and Biosimilarity” nemzetközi gyógyszerkutatási konferenciára, amelynek immár harmadik alkalommal adott otthont a Magyar Tudományos Akadémia díszterme. A rangos esemény szervezésében a Magyar Elvlasztástudományi Társaság, az MTA Kémiai és Orvosi Tudományok Osztálya mellett az Akadémia Gyógyszerésztudományi Állandó Bizottsága, továbbá a European Federation for Pharmaceutical Sciences (Európai Gyógyszerésztudományi Szövetség), az American Association of Pharmaceutical Scientists (Amerikai Gyógyszerésztudományi Társaság), az International Pharmaceutical Federation (Nemzetközi Gyógyszerésztudományi Szövetség), valamint a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság is részt vállalt.

A Workshop fő szervezője és társelnöke Klebovich Imre professzor, az MTA Gyógyszerésztudományi Állandó Bizottsága társelnöke, a Semmelweis Egyetem Gyógyszerészeti Intézetének igazgatója volt.

A program résztvevői, az originális és generikus

gyógyszerfejlesztés világhírű kutatói mellett, a hatósági szabályozás vezető hazai és nemzetközi szakembereivel is találkozhattak. Az átfogó előadások felölelték a különböző típusú bioekvivalenciái, bioanalitikai, *in-vitro* kioldódási, étel-interakciós, továbbá biotechnológiai és „biohasonlósági” vizsgálatok lehetőségeit és előírásait, valamint a hozzájuk kapcsolódó klinikai vizsgálatok követelményeit. A workshop témái közül kiemelkedő jelentőségű a biotechnológia területe és a „bioszimiláris” készítmények kutatása, egészségügyi hatásai szabályozása, valamint az új gyógyszer-technológiai lehetőségek keresése.

Az ünnepélyes megnyitón a résztvevőket köszöntötték:

- Prof. Pálkás József, a Magyar Tudományos Akadémia elnöke,
- Prof. Klebovich Imre, a Workshop társelnöke, az MTA Gyógyszerésztudományi Állandó Bizottsága társelnöke,
- Prof. Vinod P. Shah, a Workshop társelnöke, az International Pharmaceutical Federation (FIP) tudományos titkára, az American Association of Pharmaceutical Scientists (AAPS) korábbi elnöke,



Elnökség a Workshop ünnepélyes megnyitóján: Prof. Szökő Éva, Prof. Felsing Attila, Prof. Klebovich Imre, Prof. Pálkás József, Prof. Vinod P. Shah, Prof. Clive G. Wilson, Dr. John Gordon, Barva László (narrátor)



*Prof. Pálkás József az MTA elnöke köszönti
a Workshop résztvevőit*

– Dr. John Gordon, a WHO képviselője,
– Prof. Felinger Attila, a Magyar Elválasztástudományi Társaság (METT) elnöke,
– Prof. Szőkő Éva, a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság (MGYT) alelnöke,
– Prof. Clive G. Wilson, a European Federation for Pharmaceutical Sciences (EUFEPS) előző elnöke
„Nem lehet eléggé hangsúlyozni a gyógyszerkutatásoknak és a gyógyszeriparnak a modern civilizációban betöltött szerepét. A területen folyó kutatások nélkül ma szó szerint kevesebben ülnének itt” – mondta a konferencia megnyitóján Pálkás József. Az MTA elnöke rámutatott, a gyógyszerfejlesztés az egész világon az egyik vezető iparág, amely Magyarországon is komoly hagyományokkal büszkélkedhet. „Bízom benne, hogy ez a konferencia is hozzájárul majd a gyógyszerkutatás és -gyártás etikai elveinek megszilárdításához, valamint új megoldások és technológiák révén az emberiség jóllétének növeléséhez.”

Klebovich Imre professzor társelnöki megnyitó beszédében többek között hangsúlyozta, hogy „a harmadik alkalommal megrendezett BEW Európa legnagyobb és legrangosabb e tématerületű konferenciájává nőtte ki magát, amely a magyar gyógyszerkutatás és a regulatory science nemzetközi elismerését is jelzi. Külön öröm számunkra, hogy a multidiszciplináris szakterület legrangosabb külföldi és hazai szakemberei fogadták el meghívásunkat. A Workshop logójában megjelenő Lánchíd szimbolikusan köti össze a különböző tudományterületeket és művelőit”.

A három nap során, az alábbi tíz szekcióban elhangzott összesen 29 előadást 17 nemzetközileg is kiemelkedő professzor tartotta, akik javarészt a ha-

tósági előírások kidolgozásában is részt vettek. A hagyományosan nagy népszerűségnek örvendő, öt vitafórumon nyílt lehetőség interaktív diszkusszió formájában a mindennapi gyógyszerkutatási és regisztrációs kérdések megválaszolására, amelyeket a szakterület legismertebb professzorai moderáltak.

Szekció I.: Regulatory Perspectives I.

Üléselnökök: Klebovich Imre, Vinod P. Shah

- Paál L. Tamás (GYEMSZI-OGYI, Budapest; Szegedi Tudományegyetem, Szeged; Semmelweis Egyetem, Budapest): Reflections on BE Regulations – How Can They Be Improved?
- Leslie Z. Benet (University of California, San Francisco, CA, USA): Why Do Bioequivalence Studies in Healthy Volunteers?
- Vinod P. Shah (International Pharmaceutical Federation, North Potomac, MD, USA US-FDA): Perspectives on Bioequivalence Regulations

Szekció II.: Regulatory Perspectives II.

Üléselnökök: Paál L. Tamás, Zekő Romána

- José A. G. Morais (University of Lisbon, Lisbon, Portugal EMA): Perspectives in BE Regulations
- Atilla Hincal, Y. Ilker Kanizik, Selma Koru (IDE Pharmaceutical Consultation Ltd. Co. Ankara, Turkey): Challenges in Conducting BE Studies: CRO Perspective

Panel Diszkusszió 1.

Moderátorok: Vinod P. Shah (USA), Henning H. Blume (Germany)

Szekció III.: Regulatory and New Trends in Bioanalysis

Üléselnökök: Felinger Attila (Hungary), Salomon A. Stavchansky (USA)

- Surendra K. Bansal (Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, NJ, USA): US FDA Approaches to Bioanalytical Regulations Ensuring High Quality Standards
- Henning H. Blume (SocraTec R&D Ltd., Oberursel, Germany): CHMP Guideline on Bioanalytical Method Validation
- Pat J. Sandra (University of Ghent, Ghent, Belgium): Trends in Bio-Analysis

Szekció IV.: Dissolution and Food Effect

Üléselnökök: László Endrényi (Canada), Peep Veski (Estonia)

- Martin Mueller-Zsigmondy (Novartis Pharma Ltd., Basel, Switzerland): Advances in *In Vitro* Dissolution & IVIVC

- *Panos Macheras* (University of Athens, Athens, Greece): Nonlinear In Vitro- In Vivo Correlations (IVIVC)
- *Klebovich Imre* (Semmelweis Egyetem, Budapest): Food, Alcohol and Smoking Interactions

Panel Diskusszió 2.

Moderátorok: *Surendra K. Bansal* (USA), *Panos Macheras* (Greece)

Szekció V.: BCS and Biowaivers

Üléselnökök: *José A. G. Morais* (Portugal), *Clive G. Wilson* (Scotland, UK)

- *Gordon L. Amidon* (University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA): The Scientific Basis for BCS Biowaivers and Extensions
- *Vinod P. Shah* (International Pharmaceutical Federation, North Potomac, MD, USA): Drug-Excipients Interactions
- *Gordon L. Amidon* (University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA): BCS and Drug Product Dissolution: Harmonizing BE Standards

Szekció VI.: Quality Assessment and Modified Release Dosage Forms

Üléselnökök: *Sven Stegemann* (Belgium), *Stefan Mühlbach* (Switzerland)

- *Clive G. Wilson* (University of Strathclyde, Glasgow, Scotland, UK): Gastrointestinal Physiology – Effect on Dosage Form Performance
- *László Endrényi* (University of Toronto, Toronto, ON, Canada), *Tóthfalusi László* (Semmelweis Egyetem, Budapest): Evaluation of Bioequivalence for Modified-Release Formulations
- *John Gordon* (WHO, Geneva, Switzerland): Quality Assurance & Medicinal Safety

Panel Diskusszió 3.

Moderátorok: *Gordon L. Amidon* (USA), *Henning H. Blume* (Germany)

Szekció VII.: Biotech and Complex Drug Products I

Üléselnökök: *Surendra K. Bansal* (USA), *István Greiner* (Belgium, Hungary)

- *Daan J. A. Crommelin* (Utrecht University, Utrecht, The Netherlands): Formulation of Biotech Products
- *Salomon A. Stavchansky* (University of Texas, Austin, TX, USA): Scientific and Analytical Challenges for the Characterization of Biosimilars. State of the Art of Bioanalytical Methodology to Establish Biosimilarity
- *Daan J. A. Crommelin* (Utrecht University, Utrecht, The Netherlands): Challenges and Opportunities – Biosimilar Products

Szekció VIII.: Biotech and Complex Drug Products II

Üléselnökök: *Daan J. A. Crommelin* (The Netherlands), *Martin Mueller-Zsigmondy* (Switzerland)

- *István Greiner* (European Generic Medicines Associations (EGA), Brussels, Belgium; Richter Gedeon NyRt, Budapest): Biosimilars as Part of European Biotechnology
- *Stefan Mühlbach* (Vifor Pharma Ltd., Glattbrugg, Switzerland; University of Basel, Basel, Switzerland): Non-Biological Complex Drugs (NBCD) "Similar But Not the Same" Bioequivalence to Show Comparability?

Panel Diskusszió 4.

Moderátorok: *Daan J. A. Crommelin* (The Netherlands), *John Gordon* (Switzerland)

Szekció IX.: Looking at the Future I

Üléselnökök: *Mitsuru Hashida* (Japan), *Arto Urtti* (Finland)

- *Vinod P. Shah* (International Pharmaceutical Federation, North Potomac, MD, USA): Challenges in Meeting Bioequivalence requirements for Certain types of Drug products
- *Hegedűs Lajos* (TEVA Gyógyszergyár Zrt., Gödöllő, Debrecen): Challenges in Generic Competition Efficient Drug Product Manufacturing
- *Sven Stegemann* (Capsugel, Bornem, Belgium): Added Value Generics: From Strategic Concept to Competitive Products

Szekció X.: Looking at the Future II

Üléselnökök: *A. Atilla Hincal* (Turkey), *Gordon L. Amidon* (USA)

- *Henning H. Blume* (SocraTec R&D Ltd., Oberursel, Germany): Advanced Formulation Development Established on Clinical Information
- *Mitsuru Hashida* (Kyoto University, Kyoto, Japan): New Drug Delivery Systems
- *Arto Urtti* (University of Helsinki, Helsinki, Finland): Drug Delivery to the Eye
- *Salomon A. Stavchansky* (University of Texas, Austin, TX, USA): Challenges and Opportunities in Nano-Medicine: Prophylaxis, Cure, Diagnostics and Drug Delivery

Panel Diskusszió 5.

Moderátorok: *Vinod P. Shah* (USA), *Clive G. Wilson* (Scotland, UK)

Valamennyi előadás nagyszámú érdeklődőt vonzott. Az akkreditált Workshop-on való részvétel orvosoknak és gyógyszerészeknek 18 továbbképzési pont megszerzésével jár, amely a legújabb kutatási

eredmények, valamint a legfrissebb szabályozási környezetet megismerése mellett a gyakorló szakemberek számára további motiváló tényezőt jelentett.

A rendezvény egyedülálló értéke, hogy egy fórumon egyesítette a gyógyszerfejlesztésben érintett feleket (gyógyszeripar, hatóság, kutatóbázisok, CRO-k) semleges platformot biztosítva ezáltal az egyes szereplők közötti konstruktív párbeszédre, együttműködésre.

A Workshop előadásait hagyományosan egy igényes szakkönyv formájában jelentettük meg Klebovich Imre és Vinod P. Shah szerkesztésében „Moving Forward – Advancing Regulatory Sciences Towards International Standards for Bio-

equivalence” címmel. A 370 oldalas, átfogó kiadványt minden résztvevő a regisztrációnál kézhez kapta.

Az MTA Akadémiai Klub termeiben vezető nemzetközi analitikai kioldódás-vizsgáló műszergyártók, vegyszergyártók, CRO-k és a GLP-GCP szabályai szerinti biológiai minta-szállító cégek kiállítását is megtekinthették a résztvevők. A szakmai kiállítás jól kiegészítette a három napos tudományos programot.

A nagy visszhangot kiváltó tudományos rendezvény szakmai és társasági programjai méltán váltották ki a jelenlevők osztatlan elismerését.

*Zelkó Romána
a szervezőbizottság tagja*



A megnyitóra zsúfolásig megtelt az MTA díszterme

Szerzői útmutató

Az *Acta Pharmaceutica Hungarica* a gyógyszerészeti tudományok területéről közöl eredeti, kísérletes kutatómunka eredményeit bemutató közleményeket, de fórumot biztosít összefoglaló és nem kísérletes (történeti, szervezési) tanulmányok, valamint Ph.D. és D.Sc. értekezések téziseinek közlésére is.

Hazai kutatóhelyek vagy olyan szerzői kollektívák magyar nyelvű kéziratait közöljük, ahol az első szerző magyar. Lehetőség van külföldi folyóiratban már megjelent, kiemelkedő jelentőségű közlemények magyar nyelvű változatának közlésére is, az első megjelenés időpontjától számított egy éven belül, az első közlés bibliográfiai adatainak megjelölésével.

Közlésre elfogadunk:

1. *Összefoglaló közleményeket*, legfeljebb 25 gépelt oldal terjedelemben. Ezek megírására általában a szerkesztőbizottság felkérésére kerülhet sor, illetve az erre irányuló szándékot célszerű előzetesen egyeztetni a szerkesztőbizottsággal.

2. *Közleményeket*, legfeljebb 12 gépelt oldal terjedelemben. Az ábrák és táblázatok együttes száma maximálisan 10 lehet.

3. *Rövid közleményeket*, legfeljebb 4 gépelt oldal terjedelemben (összesen legfeljebb 4 ábra és táblázat). A közlemények megjelenési sorrendjében a rövid közlemények előnyt élveznek.

4. *Ph.D. értekezések összefoglaló közleményét*, legfeljebb 25 oldal terjedelemben.

Felelősen nagy terjedelmű dolgozatok esetében a szerkesztőbizottság fenntartja magának a jogot arra, hogy a lektori javaslatok alapján a szerzőt felkérje dolgozatának rövid közleménnyé való átdolgozására.

A kézirat elkészítésének módja:

a) Általános szempontok

A kéziratot elektronikusan, csatolt file-ként kell a felelős szerkesztő e-mail címére elküldeni: zelrom@gytk.sote.hu

A táblázatokat külön file-ként, címmel és római sorszámmal ellátva készítsük.

Az ábrák és egyéb illusztrációk olyan színvonalon készüljenek, hogy azok nyomdai szerkesztésre alkalmasak legyenek. Az ábrákat külön file-ként kell csatolni, az elnevezésben az ábraszámokat fel kell tüntetni. Javasolt formátum: jpg, tiff.

Az irodalmi hivatkozásokat külön, a hivatkozások sorrendjében közöljük. A hivatkozási számot a szövegben tegyük szögletes zárójelbe.

A hivatkozások módja:

Folyóiratcikk:

1. Revelle, L. K., Musser, S. M., Rowe, B. J., Feldmann, I. C.: J. Pharm. Sci. 86, 631-634 (1997)

Szakkönyv:

2. Gyarmati L., Rác L., Plachy J., Csontos A.: A gyógyszer-technológia és biofarmácia kémiai ellenőrző módszerei. Medicina, Budapest, 1982. 147-152. old.

Könyvfejezet:

3. Ariens, E. J.: Racemates – an impediment in the use of drugs and agrochemicals. In: Krstulovic, A.M. (ed): Chiral Separations by HPLC. Ellis Horwood, Chichester, 1989. pp. 31–68.

Szabadalom:

4. U.S. Pat. 3 425 422 (1984)

Konferencia-előadás:

5. Duncan, R.: Polymer therapeutics: Targeting drugs and genes to tumours. 6th European Congress of Pharmaceutical Sciences. Eur. J. Pharm. Sci. 11, (2000) S1-S2.

Internetes hivatkozás: teljes URL-cím a keresőablakból kimásolva és az elérés dátuma az alábbiak szerint:

6. <http://www.eum.hu/main.php?folderID=3746&objectID=6000268> [2008. 08. 05.] Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja - Gyógyszeres fájdalomcsillapítás és gyulladásgátlás a reumatológiai betegségekben.

Az idegen orvosi kifejezések helyesírásában Fábíán P. és Magasi P.: Orvosi helyesírási szótár. Akadémiai Kiadó, 1992. legyen az irányadó, a kémiai kifejezések nevezéktanára és helyesírására vonatkozóan pedig Erdély-Grúz T. és Csányi P.: A kémiai elnevezés és helyesírás szabályai. Akadémiai Kiadó, 1972.; F. Csányi P., Fábíán P. és Hőnyi E.: Kémiai helyesírási szótár. Műszaki Kiadó, 1982.; valamint F. Csányi P. és Simándi L.: Szervetlen kémiai nevezéktan. Magyar Kémikusok Egyesülete, 1995.

A mértékegységek megjelölésében az SI-mértérendszer szabályai az irányadók.

b) A kézirat felépítése

A kézirat szerkesztéséhez a következő beosztást kérjük:

A *dolgozat címe* (esetleg alcíme).

A *szerző(k) teljes neve* (tudományos fokozatok nélkül), a szerkesztőséggel kapcsolatot tartó szerző neve csillaggal megjelölve.

A szerző(k) *munkahelye* teljes postai címmel, valamint a *levelező szerző e-mail címe*.

A *dolgozat magyar nyelvű összefoglalása*.

A magyar nyelvű összefoglalás terjedelme a dolgozat hosszától függően 10-20 sor legyen és az általános megfogalmazások kerülésével tartalmazza a dolgozat legfontosabb, konkrét megállapításait.

Kulcsszavak: A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcsszó megadása.

A dolgozat *címe angol nyelven*, a szerző(k) neve (keresztnevek rövidítve).

Angol nyelvű összefoglalás.

Bevezetés, amely tartalmazza a munka célkitűzéseit, valamint a vizsgálatok előzményeiből és irodalmi háttéréből annyit, amennyi a dolgozat megértéséhez és értékeléséhez szükséges.

Key-words: A dolgozat tartalmára utaló, maximum 5 kulcsszó angol nyelvű fordítása.

Kísérleti rész, amely tartalmazza a felhasznált eszközök és anyagok, valamint a kidolgozott módszerek pontos leírását.

Eredmények.

A dolgozatok csak a leírt módszerek teljesítőképességét megfelelően dokumentáló adatokkal fogadhatók el. Ezek megadásánál használjuk a matematikai statisztika korszerű módszereit.

Az eredmények értékelése.

Ábracímek.

Következtetések. Az utóbbi két fejezet összevonható az Eredmények c. fejezettel.

Az esetleges **köszönetnyilvánítások.**

Irodalomjegyzék.

